AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 1 — N.º 1
1939



Estação Agronómica Nacional
PORTUGAL

Composição e impressão da Oficina de
José de Oliveira Júnior — Alcobaça

INSTITUÍDA a Estação Agronómica Nacional, importava dar publicidade aos resultados dos vários trabalhos que nela fôssem executados, aos estudos efectuados pelos seus membros, às investigações lançadas nas várias direcções do fomento agrário, numa palavra tornava-se necessário publicar a revista que traduzisse a sua actividade.

Em vez de lhe chamar «Revista» ou «Boletim da Estação Agronómica Nacional», ou de lhe dar qualquer outro nome associado ao Estabelecimento responsável pela sua publicação, preferiu-se adoptar o título de AGRONOMIA LUSITANA. *Desta forma houve a intenção de que o título imediatamente suscitasse a ideia do País donde saíu, da Terra que a gerou, esperando-se mais que através de tôdas as vicissitudes por que êste Estabelecimento há de passar, do desenvolvimento a que naturalmente se há de submeter, o nome da revista se mantenha inalterável.*

Como a actividade é de vulto, prevê-se a possibilidade de publicação anual de 4 fascículos, para saír cada um trimestralmente com cêrca de 100 páginas.

Por ser revista de natureza científica, com intuitos de difusão dos nossos trabalhos no estrangeiro, e também para estabelecer a permuta com as publicações de todos os Institutos similares do mundo, alguns artigos serão redigidos em francês, inglês ou alemão, outros, os de sistemática, em latim, e os que forem escritos em português serão sempre acompanhados de sumário numa daquelas três línguas.

Embora a AGRONOMIA LUSITANA *seja criada para os trabalhadores da Estação Agronómica Nacional, aceitar-se-á com agrado a colaboração ocasional de investigadores nacionais ou estrangeiros, de renome mundial, que desejem dêsse modo manifestar o seu apoio pelo desenvolvimento das investigações científicas desta instituição.*

AGRONOMIA LUSITANA





ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL

PORTUGAL

VOL. 1 — N.º 1

1939

MUTAÇÕES SOMÁTICAS EM VARIEDADES PORTUGUESAS DE POMÓIDEAS

POR *J. VIEIRA NATIVIDADE*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

INTRODUÇÃO

As mutações somáticas ou *bud sports* oferecem em pomologia um interêsse crescente, já pela oportunidade que proporcionam de melhorar de forma rápida, económica e segura as variedades culturais, permitindo a criação de novas linhas com caracteres mais vantajosos, já também porque a ocorrência de mutações inferiores ao tipo e indesejáveis na cultura, perpetuadas e divulgadas involuntàriamente pela enxertia, traz sérios prejuízos à economia do pomar e levou à necessidade de encarar sob um novo aspecto a selecção das plantas-mães.

Embora as primeiras referências na literatura a êste tipo de variação datem de há quási dois séculos, só nos últimos vinte anos se reconheceu que êle constitui no domínio da fruticultura uma fonte copiosa de novas formas ou tipos culturais, alguns dêles ocupando hoje lugar importantíssimo na cultura fruteira.

Sem o propósito de revermos a já extensa literatura sôbre o assunto, o que foi feito por SHAMEL (1921), BREGGER (1932, 1933) e mais recentemente por SHAMEL e POMEROY (1936) e SCHMIDT (1937), tem interêsse referir que, só nas aurancióideas, SHAMEL e POMEROY (1936) registaram 1.664 mutações, compreendendo 22 tipos de variação nos frutos e 4 na folhagem. Na maceira, pereira, ameixeira, cerejeira e videira mencionam os mesmos autores 863 mutações, e 128 em outras espécies fruteiras. A esta lista temos que juntar ainda, pelo menos, as mutações observadas na pereira por HOUSTON (1937) e por SHAMEL (1937), no pessegueiro por UPSHALL (1937), e na ameixeira por KINMAN (1937).

Cingindo-nos às pomóideas, e apenas à pereira e à maceira, as duas espécies sôbre que incide a presente contribuïção, as varia-

Recebido para publicação em Outubro de 1938.

ções até agora observadas afectam os seguintes caracteres: forma do fruto, tamanho e côr, estrutura da epiderme, natureza da polpa, época de amadurecimento, forma e côr das fôlhas, época de desabrochamento das flores, tipo de crescimento e rusticidade. As novas características, favoráveis umas, desfavoráveis outras, perpetuam-se pela propagação vegetativa.

Na maceira, são as mutações na côr que mais interêsse têm despertado, e tanto assim que, das 391 variantes registadas nesta espécie por SHAMEL e POMEROY (1936), 254 dizem respeito a aumento de côr e 21 a perda de colorido. De facto, a deficiência de côr nas castas matizadas, manchadas, ou raiadas, constitui uma causa freqüente de depreciação comercial das colheitas. Nas castas raiadas, sobretudo, é cada vez maior a exigência de um mínimo de superfície còrada, e tal requisito dificilmente pode ser satisfeito, a-pesar dos cuidados de granjeio e dos artifícios na colheita (HOFFMAN 1937), por algumas das castas vermelhas de maior mérito, onde a percentagem de superfície còrada é, em grande parte da produção da árvore, inferior à que os mercados hoje admitem.

Avalia-se a enorme vantagem que apresenta a possibilidade de se estabelecerem novas linhas mais intensamente còradas dessas variedades *(red strains)* sem o recurso moroso, dispendioso e incerto da hibridação, e sem modificar nenhuma das outras características que motivaram a preferência por essas castas. Até 1911, apenas oito destas mutações haviam sido descritas; em 1931, SHAMEL (1932) regista 143; BREGGER (1932), um ano depois, 202, e recentemente SHAMEL e POMEROY (1936) mencionaram 254 mutações vermelhas em 39 variedades comerciais, cabendo 57 à *Delicious*, 29 à *Winesap*, 21 à *Rome beauty*, etc.

Independentemente das variações na côr, as mais procuradas, outras ocorrem de não menos interêsse prático, embora de apreciação mais difícil, e que, de uma maneira geral, afectam o vigor e a produtividade da árvore ou as características do fruto. Assim se explica a importância crescente dada a esta nova possibilidade de melhoramento das variedades cultivadas.

No que diz respeito às pereiras, o número de mutações registadas é consideràvelmente menor do que nas maceiras, e com menos valor também. SHAMEL e POMEROY (1936) mencionam 93 variantes, 47 das quais consistem na produção de frutos raiados. Esta é, de facto, se não a variante mais freqüente, pelo menos a

mais evidente para o observador. Conhecem-se numerosas linhas raiadas ou *panachées* de variedades de típico colorido uniforme. Recentemente ainda, observámos numa árvore de casta *Rabiça* um ramo importante que produz frutos raiados; a nossa antiga pera *Riscadinha* ou *Fita* teve evidentemente origem numa mutação de gomo, e foi conservada através dos tempos pela sua extravagância. Estas quimeras são susceptíveis de segregação, como demonstraram GARDNER, CRIST e GIBSON (1933) e GARDNER (1937), e não se perpetuam inalteràvelmente portanto pela propagação vegetativa.

SHAMEL e POMEROY registam ainda 17 mutações careposas, de que observámos também na região um caso na variedade *William's;* 13 de frutos maiores do que o normal da casta; e as restantes atingem a forma dos frutos, a côr, a época de maturação e certos caracteres da folhagem. Nestes números estão compreendidas as mutações descritas por MERRIL (1929), SHAMEL, POMEROY e HARMON (1931) e DRAIN (1932), e dizem principalmente respeito às variedades *William's Winter Nellis* e *B. Bosc.*

Mais recentemente, HOUSTON (1937) descreve uma mutação na época de desabrochamento das flores na pereira *Winter Nellis*, em que um ramo floresce quando a parte restante da árvore está ainda em repouso; SHAMEL (1937) menciona uma mutação de frutos gigantes na mesma variedade, sem envolver alterações na guarnição cromosómica. Da variedade *William's* e *Fertility* são conhecidas mutações gigantes tetraplóides (2n=68).

Nesta primeira contribuïção para o estudo das mutações somáticas das fruteiras portuguesas apresentam-se quatro mutações, uma na pereira *Carapinheira* e três na maceira *Casa Nova de Alcobaça*, duas delas com incontestável interêsse económico. Sugere-se ao mesmo tempo a utilidade de se pesquizarem novas variantes das principais variedades comerciais de fruteiras e de se submeterem a cuidadoso estudo tôdas as que possam oferecer vantagens para a cultura.

PEREIRA CARAPINHEIRA

Uma mutação no tamanho e época de amadurecimento dos frutos

De remota cultura e largamente espalhada no país, a variedade *Carapinheira* é bastante conhecida para que seja necessário

descrevê-la. O sabor e perfume particulares do fruto, a sua individualidade, digamos, tão acentuada que o torna inconfundível, a sucosidade da polpa, a côr agradável que a epiderme adquire na maturação, a notável rusticidade da árvore, justificam o aprêço em que é tida esta casta e a grande popularidade que desfruta nos mercados nacionais, a-pesar-de alguns defeitos que muito a prejudicam como variedade de comércio.

De facto, a abundância de nódulos esclerenquimatosos na polpa e junto ao coração, o pequeno tamanho dos frutos, cujo pêso raro excede 100 gramas, e, por fim, a sua curta temporada, própria das variedades que amadurecem cedo, impedem que se lhe dê nas novas plantações comerciais lugar de harmonia com aquela popularidade.

O melhoramento desta casta pelos métodos usuais constitui problema de resolução morosa e difícil, sobretudo por ignorarmos o comportamento hereditário do carácter de maior valia neste caso: o sabor particular da polpa, o característico gôsto a amêndoa, único nas variedades cultivadas desta espécie. Avalia-se assim a importância que ofereceriam as mutações de gomo que eliminassem ou atenuassem alguns dos defeitos enunciados.

Origem e características da mutação

No pomar da Escola Agrícola Vieira Natividade, em Alcobaça, existem três árvores, hoje com 22 anos, que, embora sob o nome de *Carapinheira*, e possuindo desta variedade as principais características morfológicas, divergem da variedade típica pelo tamanho dos frutos e época de maturação.

Estas árvores foram enxertadas na própria Escola, então Pôsto Agrário, com garfos provenientes de uma árvore adulta, da mesma casta, existente nos terrenos dêste estabelecimento, e já desaparecida (1).

Torna-se impossível averiguar se a árvore-mãe possuia as mesmas características e seria a conseqüência da propagação involuntária de uma mutação mais remota, o que é pouco provável, pois dificilmente passaria despercebida, ou se os garfos utilizados

(1) Estas indicações devo-as ao Senhor António Ferreira Reis, que primeiro observou as particularidades descritas.

na enxertia provieram apenas de um ramo mutante. A verdade é que tôdas as árvores observadas apresentam a mesma particularidade, que subsiste nas plantas enxertadas com gomos desta origem. Temos conhecimento de que um proprietário, pelo menos, a quem pelo antigo Pôsto Agrário foram fornecidos enxêrtos nestas

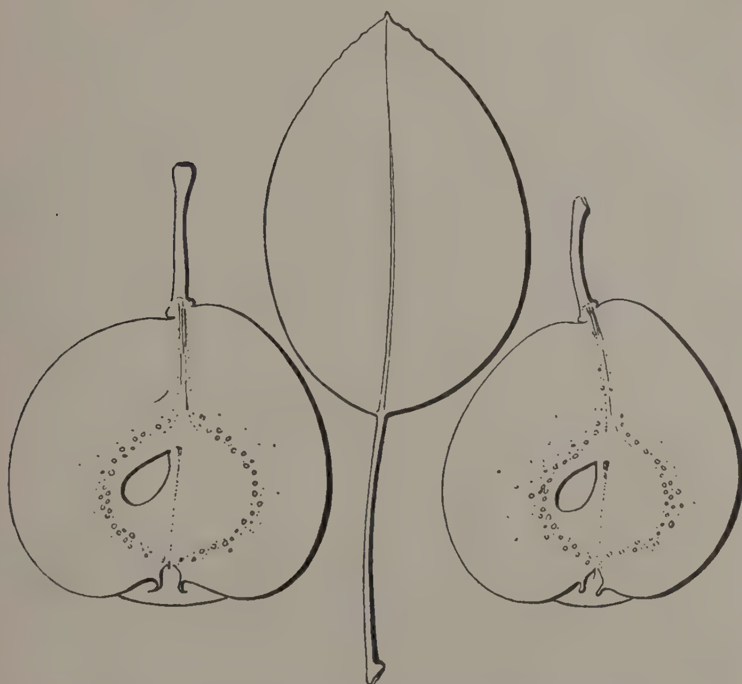


Fig. 1. Frutos e fôlha da variedade *Carapinheira* típica. $^3/_4$ do tamanho natural

condições, notou por sua vez que os frutos, mais serôdios e maiores, não correspondiam aos da variedade, motivo por que as árvores deixaram de ser utilizadas como plantas-mães.

Apenas em dois caracteres é possível distinguir a mutação da casta típica: a época de amadurecimento, que se realiza 15 a 20 dias mais tarde, e o tamanho dos frutos, bastante maior do que o normal da variedade, sem que todavia nos deixe supor tratar-se de uma mutação poliplóide.

Ao passo que os frutos médios da variedade apresentam o diâmetro de 55-60 milímetros e pesam 80 a 100 gramas, nos da mutação o diâmetro sobe a 65-70 milímetros e o pêso a 130-140 gramas. Numa variedade, como esta, tìpicamente de frutos pequenos, as diferenças são bastante apreciáveis, fig. 1 e 2.

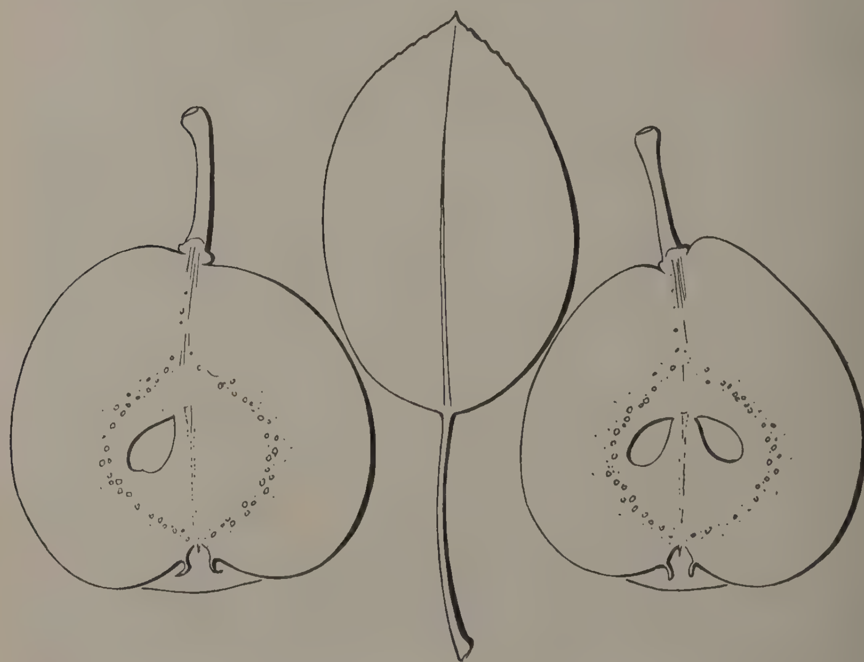


Fig. 2. Frutos e fôlha da mutação da variedade *Carapinheira*. 3/4 do tamanho natural

Aponta-se ainda que o sabor característico da variedade é menos acentuado, que os frutos são menos gostosos, mas a apreciação é difícil, porquanto, na própria variedade, as peras maiores são em geral menos ricas de sabor do que as de menor tamanho.

Nos restantes caracteres do fruto não foi possível evidenciar diferenças apreciáveis. Em ambos se observa a mesma quantidade, côr e distribuïção da carepa, a prega carnuda na inserção do pedúnculo, tão característica da variedade, idêntico dimorfismo nas sépalas, ora patentes, ora carnudas na base e erecto-divergentes,

etc. Nos frutos encontram-se as duas formas representadas nos desenhos.

O estudo a que submetemos os órgãos da árvore também não revelou qualquer diferença. A identidade é perfeita no tamanho, forma e recorte das fôlhas, comprimento do pecíolo, estípulas, etc. O mesmo no que diz respeito aos gomos, epiderme dos ramos, número, tamanho e distribuïção das lentículas, etc. A mutação parece ainda não ter afectado nem o vigor, nem a produtividade da árvore.

O interêsse cultural desta mutação é evidente. Além da melhoria no tamanho, benefício apreciável numa casta de frutos pequenos, permite estabelecer uma nova linha de maturação mais tardia e prolongar o período de venda desta apreciada variedade, exactamente na quadra em que escasseiam as castas de mérito.

Os elementos obtidos permitem afirmar que a variante está estabelecida e se mantém inalterada pela propagação vegetativa.

MACEIRA CASA NOVA DE ALCOBAÇA

Três mutações no colorido dos frutos

Entre as variedades de maceira cuja cultura tomou entre nós nos últimos anos maior expansão, a *Casa Nova de Alcobaça* ocupa lugar notável. O colorido dos frutos, talvez único entre as castas cultivadas, um vermelho sanguíneo, vivo, e tão brilhante que a epiderme, retirada a pruína, parece envernizada; o sabor particular da polpa, inconfundível, a que se junta leve e agradável acidez; a sua textura, macia mas não farinhenta, granjearam-lhe alto crédito nos mercados internos e constituem predicados valiosos a recomendá-la para a exportação.

A-pesar da sua origem recente, que não irá além de 80 anos, ràpidamente se difundiu por todo o país. De ano para ano aumenta o interêsse por esta variedade, a ponto de ser com razão anteposta hoje a muitas castas exóticas de renome, mas de méritos inferiores.

Como acontece à maioria das variedades matizadas raiadas, há que censurar-lhe, porém, a freqüente deficiência de côr. Só em condições muito favoráveis metade da produção da árvore é constituida por frutos com mais de 50 % da superfície còrada, e é sempre

reduzida a percentagem de maçãs completamente vermelhas. Pode dizer-se que nas árvores típicas da variedade predominam os frutos em que o pigmento vermelho do fundo é em grande parte substituido pela côr verde, onde sobressaem, com maior ou menor intensidade, as raias vermelhas ou apenas rosadas. E como o fundo verde só na maturação completa se transforma na côr amarela característica, o aspecto dos frutos com insuficiente colorido não é atraente, e afecta portanto o seu valor comercial.

A ocorrência de mutações vermelhas apresenta por isso na variedade *Casa Nova* uma importância invulgar; a fixação e propagação dessas mutações constitui o caminho mais seguro e mais simples de eliminar o defeito apontado.

Na região de Alcobaça, onde a variedade é extensivamente cultivada, foi possível determinar três variações, diferentes da variedade típica quanto ao colorido, e cuja origem só se pode atribuir às mutações de gomo. Existirão porventura outros tipos intermédios, como é freqüente nas mutações dêste género, assim como variações na forma e em outros caracteres, cuja enumeração omitimos, pois só experimentalmente se poderá destrinçar a parte que cabe às simples flutuações e às verdadeiras mutações somáticas nessa variabilidade.

Antes de descrever com alguma minúcia as três mutações observadas, uma das quais apenas oferece interêsse cultural, julgamos indispensável caracterizar bem as diferenças encontradas.

Na côr da epiderme dos frutos raiados da variedade *Casa Nova de Alcobaça* distinguimos três matizes: o fundo verde, que na maturação adquire um tom amarelo-rosado muito característico; o pigmento vermelho sanguíneo que cobre total ou parcialmente o fundo verde; e o pigmento vermelho, mais escuro, em estrias ou raias sôbre o fundo vermelho, ou apenas rosado sôbre o fundo verde.

Nos frutos das árvores típicas da variedade encontramos, desde os mais sombrios aos mais expostos, todos aqueles matizes; e se tivermos em consideração as circunstâncias que intervêm na intensidade do colorido, avalia-se quantas dificuldades oferece pôr em evidência as mutações na côr desde que nos não encontramos em presença de características extremas.

Limitamo-nos por isso a mencionar apenas aquelas em que a caracterização não oferece dúvidas.

Se apenas considerarmos, em cada árvore, os frutos expostos

à insolação, podemos descrever assim os tipos raiados que observámos, e actualmente espalhados na cultura:

Tipo normal: O pigmento vermelho só excepcionalmente cobre por completo o fundo verde, que em geral aparece junto às fossas e na face não exposta, onde o raiado é menos abundante e mais esbatido. São numerosas e evidentes as lentículas de côr mais clara (verde) sôbre o fundo e o raiado vermelhos, sobretudo na face exposta.

Mutação vermelha: O pigmento vermelho cobre uniformemente tôda a superfície, sem deixar a descoberto o fundo verde. Raiado abundante, de côr mais escura. Lentículas apenas perceptíveis. Além desta mutação raiada existe outra de colorido uniforme, adiante descrita, observada apenas num ramo.

Mutação descorada: Fundo verde, depois amarelo rosado na maturação, com raras estrias apenas rosadas na face exposta ao sol e ausentes nas fossas e na face não exposta. Frutos ensombrados uniformemente verdes.

Sôbre estas diversas mutações apresentamos a seguir os elementos de maior interêsse que obtivemos.

Mutação vermelha, raiada (fig. 3-C e 4-C).

Numa maceira situada junto à povoação das Pedras, na freguesia do Vimeiro, encontrámos um ramo mutante em que os frutos, completamente vermelhos a-pesar-de ocuparem lugar interno na copa, se destacavam, pela intensidade do colorido, de todos os restantes produzidos pela árvore. Foi por certo de mutações análogas que provieram as árvores que tivemos ocasião de estudar, e que não são raras, pelos menos naquela freguesia.

De facto, observámos ali algumas destas maceiras em que pràticamente todos os frutos apresentam o máximo de côr desejado, e que por êsse motivo se distinguem à primeira vista, na época da colheita, das árvores típicas da variedade. Ainda nas maçãs que sofreram maior ensombramento, a percentagem de superfície còrada e a intensidade do colorido não são inferiores aos que apresentam os frutos mais expostos das outras árvores. A polpa, junto à epiderme, e por vezes em extensão maior, apresenta-se rosada. No mesmo local encontram-se maceiras desta variedade em que a percentagem de frutos vermelhos é diminuta.

Pelo contrário, as árvores do tipo que descrevemos são notadas na região, especialmente pelos compradores, graças ao intenso colorido dos frutos, a ponto de alguns suporem que se trata de uma variedade distinta.

Nenhuma outra diferença, além da maior intensidade da côr, foi possível evidenciar, tanto nos frutos como nos caracteres da árvore, e, embora alguns pomareiros afirmem ser esta variação mais produtiva, não temos elementos por agora para o poder corroborar.

As observações realizadas confirmam o grande interêsse económico que as mutações deste tipo oferecem sôbre o tipo normal e mostram a necessidade de isolar entre elas as que melhor correspondam às exigências da cultura.

Mutação vermelha, uniforme (fig. 4-A e B)

Ainda que mais rica de côr do que o normal, a importância desta mutação para a cultura é nula. De facto, a dupla tonalidade vermelha do fundo e do raiado constitui uma das mais apreciadas características da variedade *Casa Nova*. Nesta mutação, não só o raiado desaparece, mas a própria côr vermelha adquire tom mais escuro e menos brilhante. Associado ao colorido uniforme observámos nos frutos um gomado intenso na fossa apical, fig. 4-B.

A variação referida foi encontrada numa árvore da Escola Agrícola Vieira Natividade, e no ramo mutante não se observaram outras diferenças além das que se mencionam.

Mutação descorada (Fig. 3-A)

Não foi possível determinar a origem desta mutação desfavorável que se encontra na cultura, involuntàriamente divulgada, e que não é rara na região. Os frutos, ainda os mais expostos, apenas apresentam leves raias rosadas no bôjo, como foi dito, e só na face exposta. Nos que se desenvolveram ao abrigo da folhagem, é freqüente a completa ausência de pigmento vermelho.

Observações durante anos consecutivos quanto à intensidade do colorido dos frutos em árvores dêste tipo mostraram que a localização das árvores e as condições climatéricas muito pouco afectam a percentagem de côr.

A ocorrência desta e porventura ainda de outras mutações

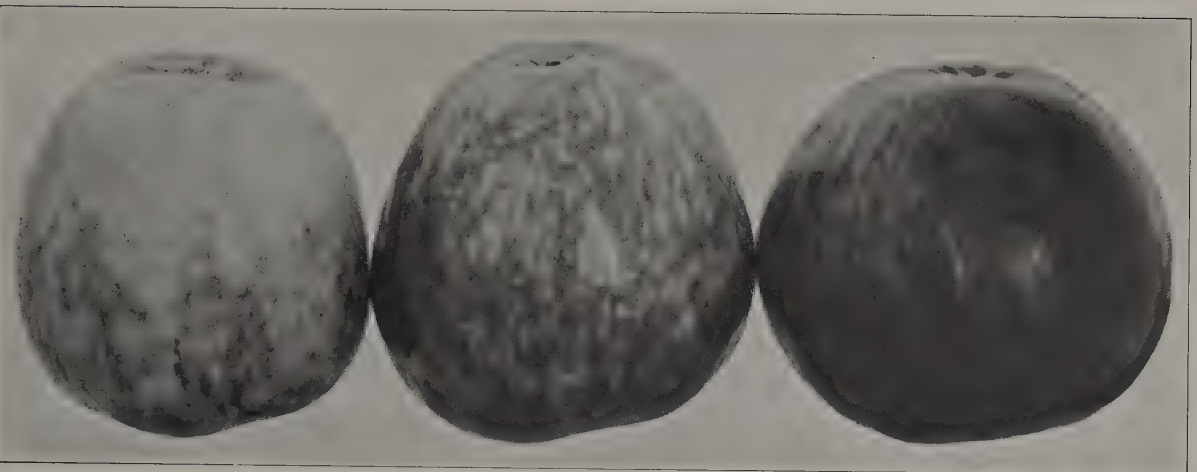


Fig. 3 — VARIEDADE CASA NOVA DE ALCOBAÇA

A — Fruto da mutação descorada
B — Fruto normal
C — Fruto da mutação vermelha, raiada



Fig. 4 — VARIEDADE CASA NOVA DE ALCOBAÇA

A e B — Mutação vermelha de colorido uniforme
C — Fruto da mutação vermelha, raiada

desfavoráveis, que podem prejudicar muito a economia do pomar, impõe na variedade referida o maior cuidado na selecção das plantas-mães para enxertia.



A mutação na época de amadurecimento dos frutos na pereira *Carapinheira* e a mutação vermelha raiada da maceira *Casa Nova de Alcobaça,* resumidamente descritas, demonstram, sem necessidade de se recorrer aos copiosos exemplos da literatura, as possibilidades que êste tipo de variação oferece no estabelecimento de novas linhas das variedades de comércio dotadas de características mais vantajosas.

Os exemplos citados devem constituir, pois, um incentivo para que se procurem outras mutações, e mostram o interêsse que há em tornar conhecidas as formas novas que apareçam nos pomares, vantajosas e não vantajosas, pois entre estas últimas muitas oferecerão interêsse científico.

Nem sempre é fácil distinguir as mutações das simples flutuações, que não são perpetuáveis pela propagação vegetativa. Por outro lado, a um novo carácter proveitoso podem estar associados outros mais ou menos desfavoráveis, e que se não evidenciam no momento (menor produtividade, menos resistência a certas pragas, menor rusticidade, etc.). É indispensável, portanto, submeter a ensaios cientìficamente orientados pelos estabelecimentos oficiais de agricultura tôdas as variantes novas de possível importância cultural, de modo que só as linhas de incontestável valor sejam entregues à cultura em larga escala.

Mas se as mutações somáticas vêm em muitos casos em auxílio do pomareiro, e colaboram na valorização da produção frutícola com variações superiores ao tipo, noutros casos, e mais numerosos por certo, essas variantes, inferiores à variedade, involuntàriamente propagadas, prejudicam a economia do pomar.

Os exemplos citados da mutação descòrada e da de colorido uniforme na maceira *Casa Nova,* para nos cingirmos ao material nacional até agora estudado, evidenciam, sem necessidade também de recorrermos aos exemplos da literatura, — e especialmente no que se refere aos citrinos, onde são numerosos e de valor, — a importância que hoje tem a selecção das plantas-mães que hão-de fornecer

madeira para as enxertias. Tanto basta também para condenar a prática por muitos seguida de utilizar como pés-mães as próprias plantas em viveiro, e que ainda não frutificaram, visto que tôdas as mutações desfavoráveis são por esta forma multiplicadas em larga escala, despercebidamente. A esta prática se devem em grande parte as numerosas formas indesejáveis de citrinos hoje espalhadas no país, e que tanto têm contribuído para o aviltamento da nossa produção.

Entre as mutações indesejáveis nas pomóideas, temos em estudo duas linhas improdutivas das pereiras *Beurré d'Amanlis* e *Beurré de l'Assomption,* por certo originadas em mutações de gomos, diferentes da variedade típica no vigor, estatura e negação para frutificarem.

SUMÁRIO

Uma breve revista da literatura evidencia que a ocorrência de mutações somáticas nas variedades de fruteiras, e a sua divulgação após cuidadoso estudo quanto à estabilidade e valor económico, constitui o processo mais rápido e seguro de estabelecer novas linhas vegetativas, com características superiores ao tipo, de muitas variedades cultivadas.

Descreve-se uma variante da pereira *Carapinheira,* de frutos maiores e maturação mais tardia (15-20 dias), sem que o aumento de tamanho pareça estar relacionado com modificações numéricas na guarnição cromosómica, e cuja origem só se pode atribuir a uma mutação de gomo. Não foi possível evidenciar quaisquer outras diferenças em relação à variedade tipo. A mutação está estabelecida e oferece incontestável interêsse cultural.

Da maceira *Casa Nova de Alcobaça* descrevem-se três variantes, duas das quais já espalhadas na cultura, e que afectam o colorido dos frutos: 1) Mutação vermelha raiada, 2) mutação vermelha uniforme e 3) mutação descòrada. A primeira tem grande importância para a cultura, as duas restantes consideram-se desvantajosas.

Sugere-se a utilidade de se procurarem novas variantes das variedades comerciais e de as submeter a estudo sob a orientação

dos estabelecimentos oficiais de agricultura, de modo que só os tipos de incontestável interêsse sejam entregues à cultura.

BUD MUTATIONS IN PORTUGUESE PEAR AND APPLE VARIETIES

SUMMARY

The numerous references in the litterature regarding the occurence of bud sports in deciduous and citrus fruits and the increasing number of valuable commercial strains originated in recent years as bud mutations, point out, not only the future possibilities of economic fruit improvement along this line, but also the great importance of systematic bud selection in the maintenance of our varieties.

One bud mutation in pear and three colour mutations in apple, observed and studied by the writer in the orchards near Alcobaça, are described.

In the pear «Carapinheira», one of the most appreciated Portuguese varieties on the home market, a strain is recorded, originated as limb variant, which differs from the parent variety in the time of maturity (15-20 days later than the normal form) and in the size of fruits, that are larger than the type. This variant is very valuable for commercial use.

In the apple «Casa Nova de Alcobaça», a striped variety of great commercial importance, two types of whole-tree variants, presumably originated as limb sports, unintentionaly propagated, and a limb variation are recorded. These mutations may be classified as follows: 1) Increased colour. Besides the whole-tree variants, it was also found as limb sports. 2) Poor colour, or almost failure to colour. Whole-tree variants, presumably propagated from limb sports. 3) Solid or blushed red type. It was found as a limb variant and seems to be associated with protuberances around the calyx.

Mutation 1 is of great commercial importance; mutations 2 and 3 are not advantageous. Careful selection of bud wood in propagation of this variety is recommended.

The great importance of a search for other types of bud variations in our commom commercial fruit varieties is suggested to Portuguese growers and pomologists. All new plant forms discovered may be tested scientifically under the supervision of the Institutions of the Ministry of Agriculture, so that only improved sports may be perpetuated and developed commercially.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BREGGER, J. T.

1930 The prevalence and commercial importance of bud mutations in the deciduous fruits. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **27.** 425-9.

1932 A survey of bud mutations among deciduous fruit varieties. *Proc. Sixth Inter. Cong. Genetics* (N. York). **2.** 10-12.

1933 Present status of mutation studies in deciduous fruit varieties. *Proc. Amer. Soc. Nort. Sci.* **29.** 144-150.

GARDNER, V. R.

1936 A hetro-chimeric Apple sport and its vegetative progeny (abstract). *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **34.** 4.

GARDNER, V. R., CRIST, J. W, and GIBSON, R. E.

1933 Somatic segregation in a sectorial chimera of the Bartlett pear. *Journ. Agric. Res.* **46.** *11.* 1047-57.

HOFFMAN, M. B.

1938 Increasing the amount of red color on Apples after harvesting. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **35.** 212-16.

HOUSTON, D.

1937 Mutation in a pear-tree. *Fmr's Wkly,* Bloemfountein. **54.** 691.

KINMAN, C. F.

1937 An orange-colored bud sport of the Agen plum. *Journ. Heredity.* **28.** 419-20.

MERRIL, S. Jr.

1929 Pear growing with selected buds. *Journ. Heredity.* **20.** 213 17.

SCHMIDT, M.

1937 Somatische Mutationen beim Kern- und steinobst und ihre Zuchterische Dedenting. Sammelreferat. *Zuchter* **9.** 81-91.

SHAMEL, A. D.

1921 The improvement of plants through bud selection. *Exp. Sta. Hawaiian Sug. Plat.* Assn. Honolulu.

1937 A large fruited bud mutation of the Winter Nelis pear. *Journ. Heredity.* **28.** 351-2.

SHAMEL, A. D. and POMEROY, C. S.
1936 Bud mutations in horticultural crops. *Journ. Heredity*. **27.** 486-94.
SHAMEL, A. D., POMEROY, C. S. and HARMON, F. N.
1931 Bud variation in Bartlett pear trees. *Journ. Heredity*. **22.** 81-89.
UPSHALL, W. H.
1937 Some unusual bud sports of the peach. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* **35.** 47-8.

ON ECDYSIS IN THE AFRICAN MIGRATORY LOCUST

BY *A. J. DUARTE*, ENG. AGR. (LISB.), M. SC. (CANTAB.), ENTOMOLOGY DEPARTMENT, ZOOLOGICAL LABORATORY, CAMBRIDGE (1)

INTRODUCTION AND THE MOULTING PROCESS.

THE present work was carried out on *Locusta migratoria* L. subsp. *migratorioides* R. and F., which is maintained from generation to generation at the Entomological Field Station, Cambridge. It was undertaken at the suggestion of Dr. A. D. Imms, F. R. S. to whom the writer is greatly indebted for much assistance.

It is well known that in insects ecdysis is preceded by a period of almost complete inactivity. In *Locusta*, at this period, no food is taken and the abdomen becomes distended owing to the swallowing of air into the gut. Dissections showed, at this time, that the digestive tract is devoid of solid contents, only a dark brown fluid being present. The swallowing of air in connection with moulting seems to be a widespread process for it has been recorded in various insects by KNAB (1909), KUNCKEL D'HERCULAIS (1890), EIDMANN (1924), WACHTER (1930), etc. In *Locusta* the presence of air in the distended alimentary canal can be demonstrated by cutting deeply into the abdomen, thus causing it to contract owing to the escape of air through the wound.

In *Locusta* the line along which the splitting of the cuticle occurs is located on the apex of the pronotum. Towards this region the epicuticle thickens and there is a corresponding thinning of the exocuticle. Along the actual line where dehiscence takes place the exocuticle is wanting (Fig. 6). In this situation the hypodermis has its cells greatly elongated at right angles to the body surface. This gives to the epithelial layer the aspect of a structure which would seem to be able to withstand the stresses and strains involved in the casting of the cuticle.

When about to moult the insect hangs by its legs head

(1) Now working at: Estação Agronómica Nacional. Lisboa.
Received for publication October 1938.

downwards. Obviously in this attitude the force of gravity greatly assists the insect in getting out of the old skin.

By swallowing air the body is caused to expand and by muscular efforts it gives rise to forces acting perpendicularly to the skin. Muscular efforts, as shown by movements of expansion and contraction of the body, mainly in the thorax, cause the blood to be pressed against the body-wall. Consequently the pronotum bulges out and its anterior part splits along the upper ridge thus uncovering the new cuticle. Almost simultaneously, another split appears in the posterior part of the pronotum and immediately the cuticle in the upper part of the pronotum is longitudinally separa-



Fig. 1 — Cross-section of abdominal-wall of *Locusta migratoria, migratorioides,* 30 hours after moult into third stadium. (× 625).
ep, epicuticle; ex, exocuticle; en, endocuticle; h, hypodermis; b m., basement membrane.

ted. The continuous muscular efforts effect a forward rupturing of the cuticle along the epicranial suture and obliquely along its lateral arms finally reaching to the antennary sockets. Posteriorly the tearing of the old skin extends to the first abdominal segment. By peristaltic movements, first the head, and then the thorax gradually come out of the old skin and soon the legs appear from their chitinous coverings. Because the insect is hanging by its tarsi it drags forward the abdominal portion of the skin, which is free, causing it to become a crumpled mass. When the insect is completely free from its old skin, it has a light colour and the cuticle is soft to the touch. The body surface appears irregular which is due to the hypodermic folds and consequently the insect still continues muscular efforts in order to unfold the hypodermis to its full extent before the new cuticle hardens. This hardening probably may be associated with the appearance of substances in the

cuticle, for in parts where the exocuticle is lacking (pleural and inter-segmental membranes) the cuticle is softer than where it exists. Moreover in the new cuticle, sometime before one and a half hours after moult into the fourth *stadium* (Fig. 5) the dark--brown colour of the layers given by iron alum haematoxylin, is still absent. The absence of exocuticle one and a half hours after a moult coincides with the softness of the cuticle. On the other

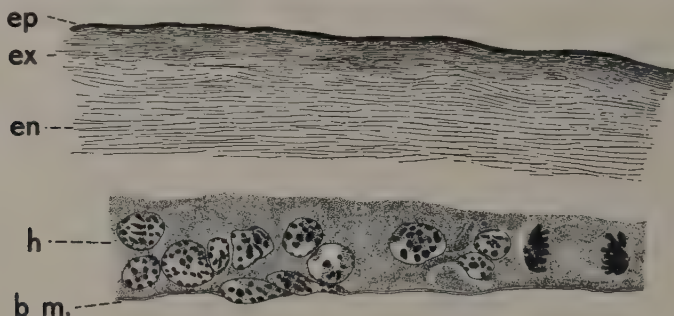


Fig. 2 — Cross-section of the abdominal wall three days after moult. On the right is represented the stage of anaphase. (×675).
Lettering as in Fig. 1.

hand thirty hours after moult into third instar and probably in a shorter time, the exocuticle is already apparent (Fig. 1) and this may account for the hardening of the cuticle which is also evident at this time. From the time of splitting of the skin to the emergence of the nymph about five minutes elapse at the temperature of 90° F. About one and a half hours later the body becomes darkened and the hypodermis fully extended (Fig. 5, h).

THE INTEGUMENT.

Third and fourth instar nymphs, bred in cages at suitable conditions of temperature and humidity, were slightly anaesthetized by chloroform, the abdomen cut off, the gut taken out and the abdominal wall longitudinally divided into two and fixed.

Several fixatives were tried. Aqueous or alcoholic Bouin's fluid rendered the pieces hard and brittle, so, that in sections, the cuticle tore away the underlying tissues. Material treated by Carnoy's fixative did not harden in the same way and a fairly complete

series of sections were obtained. Carnoy's fluid was therefore usually employed. The material to be fixed remained in the fluid for two hours, and was then washed in 90 per cent. alcohol, dehydrated, clarified in cedar-wood oil and embedded in paraffin. The pieces which were not embedded at once, in the meantime were kept in cedar-wood oil. Sections were cut six to eight μ thick,

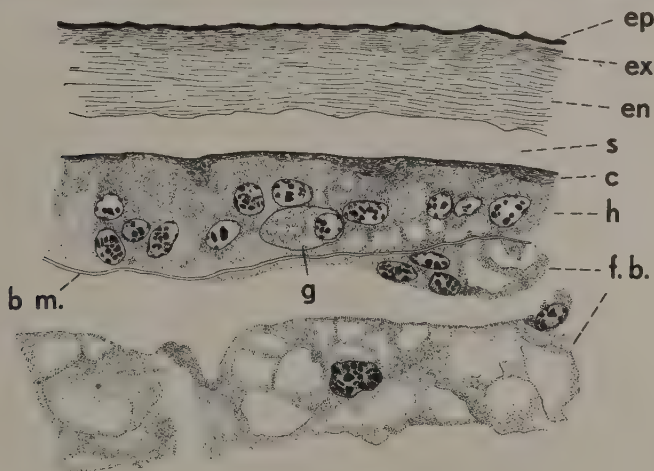


Fig. 3 — Cross-section of abdominal-wall 4 days and 20 hours after moult into third stadium. The beginning of the folding of the hypodermis, the differentiation of the exuvial glands and the formation of the new cuticle are shown. (× 660).
s, space between the old and the new cuticles; c, new cuticle; g, exuvial gland; f. b., fat-body. For other lettering see Fig. 1.

stained in iron alum haematoxylin, differentiated by iron alum one per cent, counter-stained by Orange G and mounted in Canada balsam.

The changes occurring in the integument in connection with the process of moulting were examined in insects at the following stages.

6 hours after the 3rd. moult.
30 » » » » »
3 days » » » »
4 » and 20 hours after the 3rd. moult.
5 » » 10 » » » » »
1 1/2 hours after the 4th. moult.

In sections stained with iron alum haematoxylin and orange G., the cuticle appears to be composed of three layers: —(1) an outer layer or epicuticle colouring very dark brown: (2) a middle layer or exocuticle appearing brown and (3) an inner layer or endocuticle which stains a light brown. The exo- and endocuticle show a laminated appearance but the above method of treatment did not reveal the presence of pore canals which are stated to be occupied by processes of the hypoderm cells. As WIGGLESWORTH (1933) notes, these require different treatment in order to be clearly demonstrated.

The chemical composition of the cuticle was tested by following the method of KÜHNELT (1928) and modified by CAMPBELL (1929). These tests define in the cuticle of *Locusta* two layers distinct in composition: (1) an inner layer of positive reaction to the chitosan tests, formed mainly of chitin and much thicker than (2) an outer layer defined by a conspicuous thin outline and behaving negatively to the chitosan tests. The substance which enters in the composition of the latter is therefore not of a chitinous nature and WIGGLESWORTH (1933) proposed to call it *cuticulin*. The behaviour of the epicuticle in the presence of several reagents suggested to Wigglesworth that its main component is a fatty complex or waxy substance or a mixture of both. It appears also to permeate the exocuticle, rendering it yellow in unstained preparations but gradually disappears as the exocuticle grades into the endocuticle.

The hypodermis, as seen in sections taken 30 hours after the moult into the 3rd. instar, varies in thickness between 9.5 μ and 10 μ in the tergal region and 8.5 in the sternum. At this time the hypodermis shows an almost uniform structure and fairly regular outlines (Fig. 1). The nuclei are round or elongate in shape, measuring frequently 6.5 to 7 μ in length, with their long axes parallel with that of the hypodermis. A very few isolated mitotic figures are found at this time in the hypodermis and fat-body on the site corresponding to the pleural membrane; probably they mark the beginning of the mitotic process which in *Rhodnius*, as observed by Wigglesworth, starts in the hypodermis at the inter-segmental membrane.

Forty-two hours later the hypodermis shows less regular outlines than previously. Its activity can be taken into account by its formation of cuticle the thickness of which now averages 14 μ and by the quantity of substance added to the epithelial layer.

Cell division, which was seen starting forty two hours previously in the pleural membrane, now appears as a general process, for mitotic figures can be seen along the whole section (Fig. 2); the number of nuclei seen in the epithelial layer has increased and

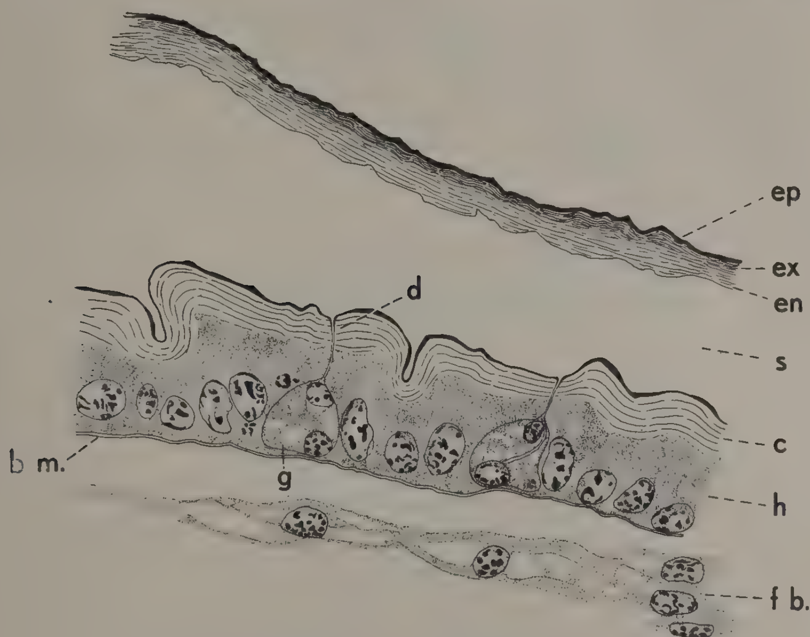


Fig. 4—Cross-section of the integument 5 days and 10 hours into third stadium. The folding of the hypodermis and the differentiation of the glands has gone further than in cases shown in Fig. 3. The ducteole d, is seen opening outside the new cuticle; inside the gland, it can be traced towards the nucleus. ($\times$ 660). Lettering as in Figs. 1 and 3.

in some cases out of 100 nuclei the mitotic figures number as many as twenty. In figure 2 is shown an anaphase at the tergal part contiguous to the pleural membrane. Whereas in the previous phase the nuclei were disposed in a single row, now the increase in their number in a restricted space caused them to be placed at different levels. Wigglesworth remarks that, in order to divide, the cell must detach itself from the cuticle, and, as soon as the new cuticle is

laid down, mitosis ceases. But in *Locusta*, at this phase and even when the exuvial glands are active, mitotic figures can be seen in the sternal part of the hypodermis, but they are rare. In the hypodermis of the aquatic hemipteran *Limnotrichus gibbifera*, POISSON (1924) observed mitosis shortly before the fourth moult, and in *Bombyx mori* cell division proceeds further than in *Locusta*, since it is seen one day before ecdysis takes place, (YOKOYAMA, 1936). The nuclei of the hypodermal layer exhibit a diversity of shapes, suggesting the action of external pressure; some are constricted in the middle, others flattened at the sides, others round or elongate.

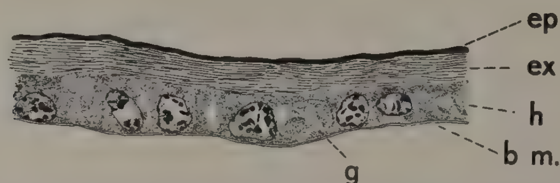


Fig. 5 — The integument 1 hour and a half into fourth stadium. The hypodermic folds have disappeared and a gland g, is undergoing degeneration. (× 700).

Cell division and the correlative separation of the hypodermis from the cuticle mark the beginning of the moulting process (WIGGLESWORTH, 1933). The activity of the epithelial cells can be judged by the quantity of substance added to the cuticular layer. The thickness of the latter has more than doubled — from about 10 μ at thirty hours after the moult (Fig. 1), it is now 25 μ thick (Fig. 2).

One and a half days later an examination of the hypodermis reveals certain changes in structure (Fig. 3). Instead of the fairly regular contour at the previous phases, now an undulating outline limits the upper edge of the hypodermis. Everywhere it is folded, the folds extending almost as deep as its inner edge. Vacuoles make their appearance now in the cell layer between the nuclei. Most probably they are one of the signs of the cell activity in connection with the moulting process. Fixation and subsequent treatment to which the material was subjected might be responsible for their appearance, but it is worth while noting that no such vacuoles were seen at the previous phases in the hypodermis treated following the same technique. In his posthumous work on *Tenebrio molitor*, WILLERS (1916) refers to a marked vacuolisation of

the cell-plasm after the old cuticle has separated. Filling the depressions of the folds a continuous thin layer — the new cuticle (c) — appears. On its outer margin it is easily distinguishable as a heavy

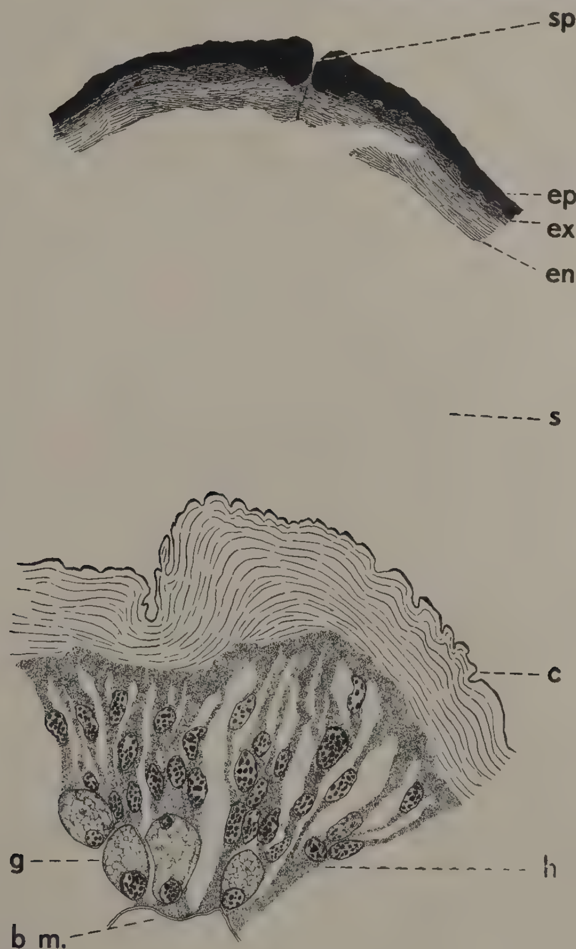


Fig. 6 — Cross-section of upper-part of pronotum, showing the splitting of the old cuticle. (× 550). sp, splitting; other lettering as in Figs. 1 and 3.

line coloured dark — the beginning of the new epicuticle. Iron haematoxylin and Orange G stain the new cuticle brown. It beco-

mes progressively darkened while the exo- and endocuticle are being secreted. Whereas in Fig. 3 (c) it is only visible as a thin layer, in Fig. 4, (c)—fourteen hours later it becomes irregularly thick. This mode of formation of the epicuticle agrees with that described in *Rhodnius* where its impregnation with «cuticulin» occurs progressively while the endocuticle is being formed. Also in *Leptinotarsa,* TOWER (1906) has described a similar mode of formation: first the deposition of the epicuticle (primary cuticle) which is accomplished before ecdysis takes place, followed by the formation of the endocuticle (secondary cuticle).

The old cuticle in *Locusta* at this time appears with its inner

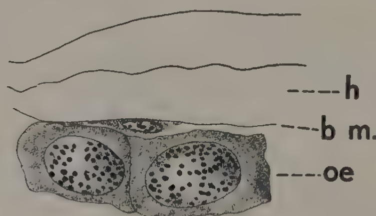


Fig. 7—The oenocytes 30 hours after moult into third stadium. (×775).
oe, oenocyte. For other lettering see anterior Figs.

margin irregular as if rent and corroded. It defines a space (Fig. 3, s) between the inner margin and the new cuticle. Into this space the moulting fluid, which brings about the destruction of the chitinous portion of the old cuticle, is presumably discharged but no trace of such a fluid was observed.

Comparing the thickness of the cuticle now (Fig. 3) and at the previous phase (Fig. 2) there appears to be a reduction ranging from about 26 per cent to 40 per cent over different regions. The increase of mass in the hypodermis causes the hypodermis to take the appearance of an undulating structure throughout its length on its free side. The existence of hypodermal folds has been shown by WILLERS (1916) to occur in *Dixippus morosus* and by HOOP (1933) in *Dytiscus, Tenebrio, Nematus* and *Dixippus.* The folds may exist in the dorsal part of the segment and be absent in the ventral part; in *Limnophila* they are present in a lateral position, the ventral and dorsal parts being smooth. At a later stage (about half a day later) further increase in mass causes the undulating hypodermis to

assume a more deeply folded appearance (Fig. 4, h) and its thickness varies between 9 and 30 μ. In Fig. 1. it will be noted that the more ovoid nuclei have their long axes horizontal. In the phase shown in Fig. 4. the nuclei have their long axes oblique or directed more or less at right angles to the body surface. This change of orientation appears to have resulted as a consequence of the folding of the hypodermis during growth. In Fig. 4 the new cuticle (c) is seen to be greatly developed and covering the hypodermis with a layer of almost uniform thickness (8 μ). Like the cell layer the cuticle shows a deeply folded appearance. Only two layers can be distin-

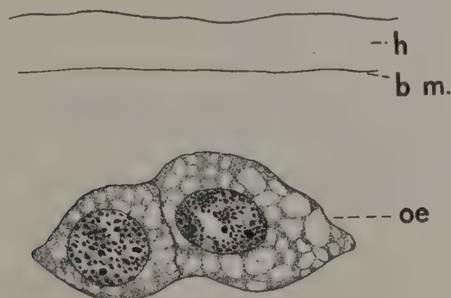


Fig. 8—The oenocytes in insects 3 days after mould into third stadium, showing maximum of vacuolisation. (×635).

guished: (1) the outer, dark and thin and of irregular thickness (not exceeding 1 μ) corresponding to the epicuticle and (2) the inner layer, thick and yellow. Here and there in the positions corresponding to the moulting glands (g) the new cuticle is traversed by the ducteoles (d), coming from the above mentioned glands. At this time the cuticle is much thicker in the upper part of the pronotum than in the tergum of the abdominal wall, (Figs. 6 and 4, respectively); and the epicuticle is much thicker relatively to the previous phase.

The space (s), Fig. 4, between the two cuticles has now increased greatly. In part it is caused by the corrosion of the cuticle by the moulting fluid, and also, as stated by PLOTNIKOV (1904), by the uplifting brought about by the increase of the above fluid which causes pressure to act upon the cuticle towards the outside. The inner edge of the old cuticle presents a very irregular aspect, as if

rent, pieces of the endocuticle coming off or detaching. These fragments separate in the form of layers and this demonstrates the stratified structure of the cuticle.

Up till now the exuvial fluid has destroyed great part of the endocuticle, only the epi- and exocuticle remaining intact. Its thickness varies between 16 and 15 μ. Immediately after ecdysis, the muscular efforts of the insect bring about the unfolding of the hypodermis to its full extent, before the cuticle has become hardened. One and a half hours after ecdysis has occurred the hypo-

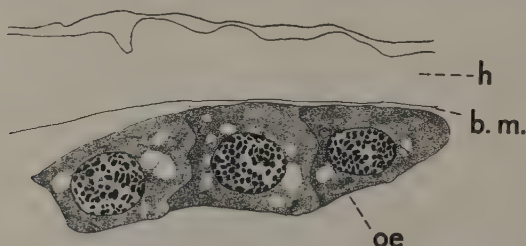


Fig. 9 — Oenocytes of insects aged 4 days and 20 hours in third stadium. Return to the resting condition. ($\times$675).

dermis takes the form shown in Fig. 5, (h). Here again the appearance is similar to that represented in Fig. 1: fairly even outlines, and a certain uniformity in structure: the elongate nuclei have turned their main axis parallel to that of the hypodermis. Only two layers at this time can be distinguished: the epi- and the exocuticle. Therefore, the epicuticle and the layer which will later become the exocuticle are laid down before ecdysis, whereas the endocuticle is secreted after ecdysis.

THE MOULTING GLANDS.

In *Locusta* the moulting glands are binucleate cells (Fig. 4) provided with a ducteole (d), directed towards the cuticle. They are present in the abdomen and in the thorax and, in the majority of cases, they are placed near the basement membrane. Their presence in the hypodermis has been detected only after mitosis.

Sections of nymphs, four days and twenty hours after the

moult into the third stadium, showed moulting glands already in a certain stage of differentiation (Fig. 3, g). In no previous material could they be distinguished from the ordinary hypodermal cells. They arise from undifferentiated hypodermal cells and are elliptical in form: the cytoplasm shows the beginning of a vacuolated condition.

One day later the glands are in a more advanced condition as shown in Figs. 4 and 6. They are fully developed and the vacuolated aspect of the cytoplasm demonstrates their great activity. Some of the glands are round and elongate, but most of them assume a pyriform shape. In the upper pronotal region the moulting glands are of an oblong shape, with the main axis directed upwards and with the secretory nucleus placed at the narrower end which is directed towards the basement membrane.

Close observations reveal the presence of a ducteole (d) passing through the hypodermis and the cuticle, opening in the space (s) beneath the old cuticle. The ducteoles appear oblique or vertical relatively to the surface of the cuticle and, owing to their inclination, sometimes only part of a ducteole may be seen in the section. Inside the gland, the ducteole can be traced towards the nucleus.

In the stick insect *Dixippus morosus* the moulting glands, according to HOOP (1933), are ductless structures, but in *Locusta* the presence of ducteoles connected with the moulting glands is beyond doubt.

In most cases two nuclei can be seen in the gland: the larger, which probably belongs to the secretory cell, appears in many cases close to the gland wall either in a lateral position or in the lower part of the structure; the other nucleus which certainly belongs to the cell of the ducteole is often placed at or close to the apex of the gland.

In other insects the number of nuclei of the exuvial glands varies between one and four. In *Rhodnius prolixus* Wigglesworth has found that the gland is composed of four cells each of which has a proper function: one plays the rôle of a secretory cell, another forms the intracellular duct, another continues it through the hypodermis and the fourth perhaps constitutes a delicate capsule for the whole structure; the last cell may not be seen in the advanced stages of development. In many Lepidoptera the exuvial glands are composed of three cells, whereas in *Tenebrio molitor* (PLOTNIKOW,

1904) and *Leptinotarsa* (TOWER, 1906) the moulting glands have only one nucleus.

The moulting glands are more numerous in the tergum than in the sternum where they are smaller. As compared with their number at the previous phase now they are more numerous and have undergone an appreciable growth, measuring 20 × 16 μ. They

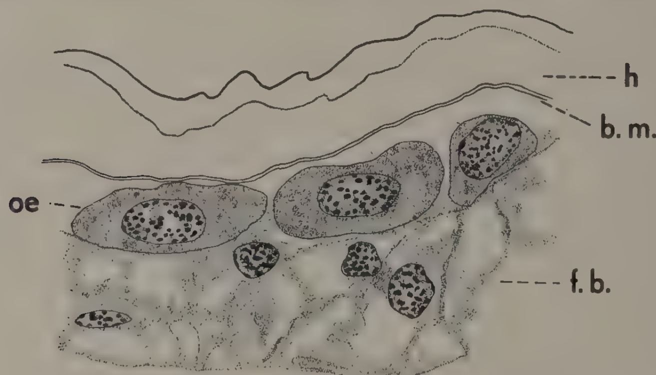


Fig. 10 — The oenocytes in the resting condition as they appear in locusts 5 days and 10 hours after moult into third stadium. (× 670).

are distributed throughout the whole segment and the number of them in a section of one side of the abdominal segment is between 20 and 25. After ecdysis the moulting glands disappear and two alternatives may happen: either all of them degenerate (Fig. 5 g) or some of them may return to the condition of a hypodermal cell and the remainder may degenerate.

Degeneration of the exuvial glands after ecdysis is recorded by WIGGLESWORTH (1933) in *Rhodnius prolixus* while in *Tenebrio molitor* they return to the condition of an ordinary hypodermal cell (PLOTNIKOV, 1904). In several Lepidoptera it is recorded that they persist throughout the larval life, breaking down in the pupal stage or, in a few cases, in the imago.

THE OENOCYTES.

Observations were made on the same preparations as those which were used for the study of the hypodermic structures. There-

fore the events occurring in the oenocytes are related to the changes taking place in the hypodermis and correspond with the moulting process. For the purpose of illustrating the series of structural changes occurring in their cytoplasm, only oenocytes lying in contact with, or near, the hypodermis of the pleural region were chosen. In *Locusta migratoria* the oenocytes are large, round or elliptical cells; each is surrounded by a membrane and, in the resting condition, the cytoplasm appears homogeneous. Iron alum haematoxylin and orange G stain these cells brownish. In fresh preparations of the fat-body the oenocytes appear colourless or pearly. They are commonly disposed in groups of several cells in close contact with the tracheae or in their neighbourhood. Also the oenocytes are frequently found in association with the fat-body, or with the hypodermis or alone in the body-cavity, either singly or in groups. They are more numerous in the sternal region than in the tergum or pleuron. Examination of sections from nymphs, thirty hours after the moult into third stadium, shows the oenocytes with two distinct structural aspects according to their location. Those lying close to the hypodermis of the pleural region appear with their cytoplasm distinctly homogeneous, (Fig. 7), whereas the aspect of the oenocytes situated deep in the body-cavity show the cytoplasm already with a few vacuoles which are placed round the nucleus. Corresponding to this stage in the oenocytes, the hypodermal cells begin to divide. It is concluded that the inner oenocytes precede in their activity those nearer to the hypodermis.

In other insects, of about the same age, the oenocytes show their cytoplasm greatly vacuolated, the vacuoles being round, oval or elongated in shape and variable in size. It can be estimated from the appearance of optical sections that one fourth of the cell is occupied by the vacuoles. Thus their volume has greatly increased and ALBRO (1930) attributed the responsibility for this increase to the vacuoles. The increase in volume is evident when the oenocytes at this phase are compared with oenocytes at the previous phase.

Three days after moulting the vacuolisation has extended to the oenocytes in contact with or lying near the hypodermis: round, oval or elliptical vacuoles are found everywhere in the cytoplasm.

This phase in the oenocyte corresponds in the hypodermis and in the cuticle (Fig. 3) with the occurrence of many changes

which characterise the moulting process: the appearance of moulting glands, the formation of the new cuticle, the vacuolisation of the hypodermic cells and the destruction of the old cuticle. Fourteen hours later the oenocytes (Fig. 10) are clearly different from those in the preceding phase; no vacuoles can be distinguished in the cell and the cytoplasm is homogeneous. It is concluded that the oenocytes have returned to the resting condition. In contrast with this resting condition in the oenocytes, the moulting glands are fully active, (Figs. 4 and 6), and the hypodermic cells are secreting the new cuticle, whereas the old skin has become largely digested.

The connection between the cyclical changes occurring in the structure of the oenocytes and the moulting process was found by VERSON and BISSON (1891) in the oenocytes of the larvae of the silk-worm *Bombyx mori*. Later this relation was confirmed by ALBRO (1930) in the beetle *Galerucella nympheae*, and by WIGGLESWORTH (1933) in *Rhodnius prolixus*.

In *Locusta migratoria*, the activity of the oenocytes during a given stage is betrayed in the increase in cell size and in vacuolisation of the cytoplasm as in *Bombyx mori* and *Galerucella nympheae*. The oenocytes situated in the body-cavity begin functioning before the oenocytes lying near the body-wall begin to be active. When the activity in the oenocyte begins, the hypodermis does not yet show the signs which denote the moulting process and when the oenocytes are advanced in their function the moulting process is following the normal course marked by the separation of the old cuticle and by cell division.

In *Rhodnius*, WIGGLESWORTH (1933) has shown that when mitosis is at an end the oenocytes have attained their maximum size and the moulting glands are recognizable; when the oenocytes become smaller the gland cells become vacuolated and the new epicuticle is formed. At the time of moulting the oenocytes are markedly reduced.

The following table brings out the correspondance between the series of events taking place in the hypodermis and cuticle, and in the oenocytes in *Locusta*.

Time after moult into 3rd. stadium	Hypodermis and cuticle	Oenocytes
30 hours	homogeneous condition	homogeneous condition
3 days	cell division	maximum vacuolisation
4 days and 20 hours	Digestion of old cuticle; formation of new cuticle; appearance of moulting glands	Decline of vacuolisation
5 days and 10 hours	Maximum activity of moulting glands	homogeneous condition

SUMMARY

In *Locusta migratoria* L. subsp. *migratorioides* R. & F., the line of weakness by which the skin tears at moulting, runs longitudinally on the upper part of the pronotum. Here the absence of the exocuticle makes the cuticle unable to withstand muscular efforts at moulting, rupturing.

The cuticle is composed of the epi-, exo- and endocuticle. However, in the pleural and inter-segmental membranes the exocuticle lacks.

The beginning of moulting is indicated by the separation of the cuticle and by mitosis in the hypodermis. Counts of nuclei in the hypodermis before and after mitosis, suggests that all the cells divide.

The moulting glands possess two nuclei and are provided with a duct opening outside the new cuticle. They are differentiated from the ordinary hypodermic cells after mitosis and probably all or some, degenerate after the moult. Their secretion digests the old cuticle, of which the epi- and the exocuticle remain untouched.

After casting the old cuticle, the integument which in cross--sections appears folded, expands to its full extent while the new cuticle is soft.

The oenocytes are found in the body-cavity particularly associated with the tracheae and with the fat-body.

In the same stadium and sinchronously with the moulting process they increase in size and become vacuolated. The existence of two nuclei in the same cell suggests the occurrence of dir ect cell division.

The oenocytes start their activity when mitosis begins in the hypodermis and return to the homogeneous condition when moulting glands are in differentiation.

BIBLIOGRAPHY

ALBRO, H. T.

1930 A cytological study of the changes occurring in the oenocytes of *Galerucella nympheae* L., during the larval and pupal periods of development. *J. Morph.*, **50,** 527-552.

BERLESE, A.

1909 *Gli Insetti,* Milan

BLUNCK. H.

1923 Die Entwicklung des *Dytiscus marginalis* L. vom Ei zur Imago. *Z. wiss. Zool.*, **121,** 171-391.

v. BUDDENBRO .K, W.

1930 Beitrag zur Histologie und Physiologie der Raupenhäutung mit besonderer Berücksichtigung der Verson'schen Drüsen. *Z. Morph Oekol. Tiere,* **18,** 701-725.

CAMPBELL, F. L.

1929 The detection and estimation of insect chitin, etc. *Ann. ent. Soc. Amer.*, **22,** 401-426.

DE BELLESNE, J

1877 Phénomènes qui accompagnent la métamorphose chez la Libellule déprimée. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **85,** 448-450.

EIDMANN, H.

1924 Untersuchungen über Wachstum und Häutung der Insekten. *Z. wiss. B. Morph. u. Oekol.* **2,** 567-610.

GEE, W.

1911 The oenocytes of *Platyphylax designatus. Biol. Bull. Wood's Hole.* **21,** 222-234.

GLASER, R. W.

1912 A contribution to our knowledge of the function of the oenocytes of insects. *Biol. Bull. Wood's Hole* **23,** 213-224.

HOLMGREN, N.
1902 Über das Verhalten des Chitins und Epithels zu den unterliegenden Gewebearten bei Insekten. *Anat. Anz.*, **20**, 480-488.

HOOP, M.
1933 Häutungshistologie einiger Insekten. *Zool. Jb. Abt.* 2, **57**, 433-464.

HUFNAGEL, A.
1918 Recherches histologiques sur la métamorphose d'un Lépidoptère *(Hyponomeuta padella* L.). *Arch. Zool. exp. gén.* **57**, 47-202.

IMMS, A. D.
1934 *A General Textbook of Entomology*, 3rd. ed., London.

KÜHNELT; W.
1928 Studien über den mikrochemischen Nachweis des Chitins. *Biol. Zbl.* **48**, 374-382.

KEMPER, H.
1931 Beiträge zur Biologie der Bettwanze (*Cimex lectularius* L.). II — Über die Häutung. Z. Morph. *Oekol. Tiere*, **22**, 53-109 *(cf. Biol. Abstr., 1929).*

KNAB, F.
1900 Ecdysis in the Diptera. *Proc. ent. Soc. Wash.*, **3**, 32-42.
1909 The rôle of air in the ecdysis of insects. *Proc. ent. Soc. Wash.* **11**, 68-72.

KOLLER, G.
1929 Die innere Sekretion bei wirbellosen Tieren, *Biol. Rev.* **4**, 269-306.

KUNCKEL D'HERCULAIS
1894 Mécanisme physiologique de la ponte chez les Insectes Orthoptères de la famille des Acridides. Rôle de l'air comme agent mécanique et fonctions multiples de l'armure génitale. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **119**, 244-247.
1890 Mécanisme physiologique de l'éclosion des mues et des métamorphoses chez les Insectes Orthoptères de la famille des Acridides. Du rôle de l'air dans le mécanisme physiologique de l'éclosion, des mues et de la métamorphose chez les Insectes Orthoptères de la famille des Acridides. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **110**, 657-659, 807-809.

PANTEL
1898 *Thrixion Halidayanum* Rend. Essai monografique sur les caractères extérieurs, la biologie et l'anatomie d'une larve parasite du groupe des Tachinaires. *Cellule*, **15**, 1-290.

PÉREZ, CH.
1902 Contribution à l'étude des métamorphoses. *Bull. sci. Fr. Belg.* **37**, 195-247.
1910 Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides. *Arch. Zool. exp. gén. (série 5).* **4**, 1-247.

PHILIPTSCHENKO, J.
1907 Anatomische Studien über Collembola. *Z. wiss. Zool.*, **85**, 270-304.

PLOTNIKOW, W.
1904 Über die Häutung und über einige Elemente der Haut bei den Insekten. *Z. wiss. Zool.* **76**, 333-366.

POISSON, R.

1904 Contribution à l'étude des Hémiptères aquatiques. *Bull. biol.* **58,** 40-204.

SCHULZE, P.

1912 Über Versondrüsen bei Lepidopteren. *Zool. Anz.* **39,** 433-444.

SHIMIZU, S.

1931 On the origin of the crystals in the exuvial fluid of the silkworm larvae. *Proc. imp. Acad. (Japan).* **7,** 361-362.

SINÉTY, R.

1901-2 Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes. *Cellule.* **19,** 119-278.

SINGH-PRUTHI, H.

1925 Studies on insect metamorphosis. Influence of starvation. *Brit. J. exp. Biol.* **3,** 1-8.

SNODGRASS, R. E.

1935 *Principles of Insect Morphology.* New-York.

TOWER, W. L.

1906 Observations on the changes in the hypodermis and cuticle of Coleoptera during ecdysis. *Biol. Bull. Wood's Hole* **10,** 176-192.

TRAGER, W.

1935 The relation of cell size to growth in insect larvae. *J. exp. Zool.* **71.**

VEJDOVSKY, F.

1925 Quelques remarques sur la structure et le dévelopment des cellules adipeuses et des oenocytes pendant la nymphose de l'abeille (male), *Cellule.* **35,** 63-97.

VERSON, E.

1900 Beiträge zur Oenocytenliteratur. *Zool. Anz.* **23,** 657-661.

1911 Beitrag zur näherer Kenntnis der Häutung und der Häutungsdrüsen bei *Bombyx mori. Z. wiss. Zool.* **97,** 457-480.

WACHTER, S.

1930 The moulting of the silkworm and a histological study of the moulting gland. *Ann. ent. Soc. Amer.* **23,** 381-391.

WHEELER, W. M.

1892 Concerning the blood tissue of Insecta. *Psyche.* **6,** 216-220, 233-236, 253-258.

WIELOWIEJSKI, H. R. von

1886 Über das Blutgewebe der Insekten. *Z. wiss. Zool.,* **43,** 512-536.

WIGGLESWORTH, V. B.

1933 The physiology of the cuticle and of ecdysis in *Rhodnius prolixus* (Triatomidae, Hemiptera), with special reference to the function of the oenocytes and of the dermal glands. *Quart. J. microsc. Sci.* **76,** 270-318.

WILLERS, W.

1916 Cellulare Vorgänge bei der Häutung der Insekten *Z. wiss. Zool.* **116,** 43-47.

YOKOYAMA, T.

1936 Histological observations on a non-moulting strain of silkworms. *Proc. R. ent. Soc. Lond.* **11,** 35-44.

MYCETES ALIQUOT LUSITANIAE

II

EMMANUELE DE SOUSA DA CAMARA
(LABORATORII PATHOLOGIAE VEGETALE)
ET *CARLOS GOMES DA LUZ*
(STATIONIS AGRONOMICAE NATIONALE)

INTRODUCTIO

CONTRIBUTIO haec, praeter species novem novas, mycetes duodetriginta hactenus in Lusitania ignotos continet.

Species asterisco uno notatae florae lusitanicae addendae sunt; quae vero duobus signantur nunc primum describuntur.

Clarissimo Joanni de Vasconcelos qui plantas hospites recognovit et adjutoribus nostri qui eas collegerunt gratias agimus quamplurimas.

Uredinales (Brongn.) Diet.

Pucciniaceae Schröt.

Uromyces caryophyllinus (Schr.) Schröt., in De-Tn., *Ustil. Ured.*, ap Sacc., *Syll.*, VII, pars II, 545; *U. cristatus* Schröt. et Nies., in De-Tn., *l. c.*, 551; *U. caryophyllinus* (Schr.) Schröt., in Wint., *Pilze Deutschl.*, 149; Har., *Uréd.*, 202; Trott., *Ured.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 66;, Syd., *Monogr. Ured.*, II ,210; Grv., *Ured.*, 108; Arth., *Man. Rust*, 286.

Frag., *Ured. Penins. Iber.*, 144, n. 238 et *Ured.*, II, 98.

G. Cun., *Ured. Port.*, 47, n.° 98.

U. cristatus Schröt. et Nies., in Alm., *Mycofl. Port.*, 13; *U. caryophyllinus* (Schr.) Schröt., in S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 4 et XI, 9.

In foliis *Dianthi caryophylli* L., in Olisippone, leg. Carlos Luz, julio, 1937.

Puccinia Arenariae (Schüm.) Wint., *Pilze Deutschl.*, 169; De-Tn., *Ustil Ured.*, ap. Sacc., *Syll.*, VII, pars II, 683; Plowr.,

---

Manuscriptum januario 1939 acceptum.

Monogr. Ured. Ustil., 210; Syd., *Monogr. Ured.*, I, 553; Har., *Uréd.*, 115; Trott., *Ured., Fl. Ital. Cryptog.*, 239 et 475; *P. Lychnidearum* Lk., in Grv., *Ured.*, 218; *P. Arenariae* (Schüm.) Wint., in Arth., *Man. Rus.*, 236.

Frag., *Ured. Penins. Iber.*, 68 et *Ured.*, I, 156, c. icon.

G. Cun., *Ured. Port.*, 13 et 82.

P. Agrostemmae Fck., *P. Lychnidearum* Lk. et *P. Stellariae* Duby, in Thüm.. *Fl. Myc. Lusit.*, I, 236 et 237 *(P. Arenariae* Schröt., in Lagerh., *Fl. Myc. Port.*, est *P. Spergulae* DC.); *P. Agrostemmae* Fck., *P. Lychnidearum* Lk. et *P. Stellariae* Duby, in Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 33 et 34; *P. Arenariae* (Schüm.) Schröt., in H. et P. Syd., *Pilzfl. Port.*, 150; Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.*, II, 348 et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 6; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 7; G. Cun., *Mycofl. Port.*, III, 105; S. Cam. *Mycofl. Lusit.*, XI, 12.

In foliis *Melandryi albi* (Mill.) Grk., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Puccinia Jasmini DC., in De-Tn., *Ustil Ured.*, ap. Sacc., *Syll.*, VII, pars II, 714; Syd., *Monogr. Uréd.*, I, 344, c. icon., Har., *Uréd.*, 156.

Frag., *Ured. Penins. Iber.*, 91 et *Uréd.*, I, 215.

G. Cun., *Ured. Port.*, 29.

Lagerh., *Rév. Ustil. Uréd.*, 129; Torr., *Fung. Setub.*, II, 13; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 54; S. Cam., Oliv. et Luz, *Myc. Lusit.*, I, 7.

In foliis *Jasmini fruticantis* L., pr. S. Salvador do Mundo, leg. Pinto da Silva, junio, 1937.

70) **Puccinia Menthae** Pers., in Wint., *Pilze Deutschl.*, I, 204, De-Tn., *Ustil. Ured.*, ap. Sacc., *Syll.*, VII, pars II, 617; Plowr., *Monogr. Ured. Ustil.*, 157; Har., *Uréd.*, 160; Syd., *Monogr. Ured.*, I, 282; Trott., *Ured., Fl. Ital. Cryptog.*, 159, c. icon.

Frag., *Ured. Penins. Iber.*, 94, n.° 136 et *Ured.* I, 231.

G. Cun., *Ured. Port.*, 33, n. 59.

P. Calaminthae Fck., in Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, I, 236 et *P. Menthae* Pers., in Thüm., *Ibid.*, II, 21; *P. Calaminthae* Fck. et *P. Menthae* Pers., in Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 33; *P. Menthae* Pers., in Lagerh., *Fl. Myc. Port.*, 133; H. et P. Syd., *Pilzfl. Port.*, 151; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 55; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 11.

In foliis *Menthae rotundifolia* × *viridis intrusae* Cout., in Olisiponne, leg. Carlos Luz, majo, 1937.

Melampsoraceae Schröt.

*71) **Hyalopsora Adianti-capilli-veneris** Syd., *Pilzfl. Lit. Geb. Istr.*, ap. *Annal. Mycol.*, I (1903), 248; Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVII, 268; Har., *Uréd.*, 253; Trott., *Ured., Fl. Ital. Cryptog.*, 391; Syd., *Monogr. Ured.*, III, 497.

Frag., *Ured. Penins. Iber.*, 198 et *Ured*, 287.

In foliis vivis *Adianti-capilli-veneris* L., in Olisippone, leg. Carlos Luz, junio, 1937.

Ustilaginales (Tul.) Sacc. et Trav.

Ustilaginaceae Tul.

Ustilago bromivora (Tul.) Fisch. v. Waldh., in Wint., *Pilze Deutschl.*, 91; De-Tn., *Ustil. Ured.*, ap. Sacc., *Syll.*, VII, pars II, 461; Plowr., *Monogr. Ured. Ustil.*, 278; Clint., *Ustil.*, ap. *Nth., Amer. Fl.*, vol. VII, pt. I,10; Schellenb., *Brandp. Schw.*, ap. *Kryptog.—Fl. Schw.*, Bd. III, Ht. 2, 18.

H. et P. Syd., *Pilzfl. Port.*, 152; Torr., *Fung. Setub.*, II, 7; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 60; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VII, 12.

In spiculis *Bromi* sp., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Carlos Luz, 1937.

Obs.: *Sporis 7,5-10,5×5,5-10 μ.*

Pyreniales (Fr.) Sacc. et Trav.

Valsaceae Tul.

72) **Eutypella minuta** Berl. et F. Sacc., in Berl., F. Sacc. et Roum., *Fl. Myc. Lusit.*, VIII, 2; Sacc., *Syll.*, IX, 461.

Berl., F. Sacc. et Roum., *l. c.*, VIII, 2; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 36, Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 62.

In ramis emortuis *Lauri nobilis* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, aprili, 1937.

73) **Eutypella stellulata** (Fr.) Sacc., *Syll.*, I, 149; *E. tetraploa* Sacc., *l. c.*, I, 156; *E. stellulata* (Fr.) Sacc., in Berl., *Icon. Fung.*, III, 68, tab. LXXXIV, fig. 2; Trav., *Pyren., Fl. Ital. Cryptog.*, 115.

Sphaeria stellutata Fr., in Berk., *Cryptog. Port.*, 6; *E. stellutata* (Fr.) Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 36; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 62.

In ramulis *Parietariae officinalis* L., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajada), leg. Silva Teixeira, aprilio, 1937.

* 74) **Vialaéa insculpta** (Fr.?) Sacc., *Not. Myc. Fg. Nv. Gall. Germ. Cap.*, ap. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, XII (1896), 67, c. icon.; Trav., *Pyren.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 320; D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXIV, 708; *Zygnoella? insculpta* (Fr.) Sacc., *Syll.*, II, 225.

In ramis *Ilicis aquifolii* L, pr. Synthia (Capuchos), leg. Silva Teixeira, octobri, 1937.

Obs.: *Peritheciis 240-480 μ. diam.; ascis 148-218 × 15-20 μ.; sporidiis 85-105 × 7-8 μ.*

Sphaeriaceae (Fr.) Sacc.

** 75) **Guignardia buxicola** n. sp. (Tab. I, fig. 1-3).

Peritheciis hypophyllis, copiosissimis, sparsis, primo tectis, dein poro rotundo minutoque (25-30 μ. larg.) erumpentibus, subglobosis, haud papillatis, excipulo crasso, nigris, 340-530 μ. diam.; ascis octosporis aparaphysatis, numerosis, clavoideis subcylindraceisve, plerumque curvulis, raro rectis, sursum rotundatis et incrassatis deorsumque angustatis, pedicellatis, achrois, 95-150 × 23,5 μ.; sporidiis biseriatis vel subdistichis, oblongis, ellipsoideis interdumque ovoideis, untrinque rotundatis, rectis, continuis, grosse granulosis, subhyalinis, 20-32 × 11,5-13,5 μ.

In foliis *Buxi sempervirentis* L., pr. Synthia (Parque Valenças); leg. Silva Teixeira, decembri, 1937.

* 76) **Anthostomella punctulata** (Rob. et Desm.) Sacc., *Syll.*, I, 278; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 557.

In caulibus *Strelitziae reginae* Ait., pr. Synthia (Monserrate), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Obs.; *Peritheciis 200-320 μ.; ascis 60-80 × 4 μ; sporidiis recti-monostichis, 7-9,5 × 2-3,5 μ.*

Anthostomella sphaeroidea Speg., in Sacc., *Syll.*, I, 281; *A. yuccae* Thüm., *Myc. Univ.*, n. 1853; *A. sphaeroidea* Speg., in Trav., *Pyren.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 486.

S. Cam., Oliv. et Luz, *Myc. Lusit.*, I, 13.

In foliis *Yuccae gloriosae* L., pr. Synthia (Monserrate), leg. Silva Teixeira, julio, 1937.

Obs.: *Peritheciis 250-350 μ. diam.; ascis basi attenuatis, 75-100 × 6-7 μ.; sporidiis quandoque uniguttatis, 9-15 × 4-6 μ.*

* 77) **Anthostomella tomicoides** Sacc., *Syll.*, I, 289; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 561; Trav., *Pyren.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 491.

In ramis *Hydrangeae hortensis* Sm. et *Melandryi albi* (Mill.) Gürke, pr. Synthia (Monserrate et Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo junioque, 1937.

Anthostomella tomicum (Lév.) Sacc., *Syll.*, I, 282; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 559; Trav., *Pyr.*, *Fl. Ital.*, *Cryptog.*, 487.

Berl., F. Sacc. et Roum., *Fl. Myc. Lusit.*, VIII, 3; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 37; Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.*, II, 216 et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 14; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 67; Frag., *Fl. Mic. Lusit.* 19.

In culmis *Holci lanati* L., pr. Synthia (Monserrate) leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

Obs.: *Peritheciis 700-900 μ diam.; ascis 148-160 × 11,5-15 μ.; sporidiis 19,5-29 × 8,5-11,5 μ.*

78) **Sphaerella punctiformis** (Pers.) Rabh., in Sacc., *Syll.*, I, 476; *S. sparsa* Auersw., in Sacc., *l. c.* I, 485; *S. salicicola* Fck., in Sacc., *l. c.* I, 487; *S. punctiformis* (Pers.) Rabh., in Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 382; Trav., *Pyren.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 538.

Sacc., *Fl. Myc. Lusit.*, X, 10 et *Consp. Fung. Lusit.*, 37, Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 69; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 28 et *Adic. Micofl. Lusit.*, 10.

In foliis *Quercus roboris* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Obs.: *Peritheciis 75-110 μ. diam.; ascis 30-48 × 6-7 μ.; sporidiis 7,5-11,5 × 3-4 μ.*

79) **Sphaerella maculiformis** (Pers.) Auersw., in Sacc., *Syll.;* I, 477; *Sphaeria maculiformis* Pers., ap. Sacc., *l. c.*, I, 477; *Sphaerella Acerina* Sacc., *l. c.* I, 536; *S. arcana* Cke., in Sacc., *l. c.*, I, 485; *S. maculiformis* (Pers.) Auerw., in Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 383; Trav., *Pyren.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 538.

Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, II, 35; v. Nies., *ibid.*, IV, 10; Sacc.,

Consp. Fung. Lusit. 37 et *Fl. Myc. Lusit.*, XII; 5 Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 69; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 28.

In foliis *Arbuti Unedonis* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Sociis *Cryptosticti arbustivum* S. Cam. et *Septoria Unedonis* Rob. et Desm.

Obs.: *Peritheciis 65-105 μ. diam.; ascis subcylindraceis, breve pedicellatis, 40-60×5,5-7 μ.; sporidiis subclavoideis, 8-13×2-3 μ.*

* 80) **Leptosphaeria culmifraga** (Fr.) Ces. et De Not., var. **linearis** Sacc., *Syll.*, II, 75; *L. culmifraga* (Fr.) Ves. et De Not., in Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 456; Berl., *Pyren.*, *Icon.*, *Fung.*, I, 84.

In culmis *Brachypodii silvatici* (Huds.) R. et Sch., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Species typica, in *Fl. Myc. Lusit.*, V, 15 (G. Wint.) jam relata est.

Obs.: *Peritheciis 255-400×80-130 μ., poro ostiolare 16-18 μ.; ascis 65-90×11-12 μ.; paraphysibus non visis (an evanidis?); sporidiis quinque usque novem septatis, 21-28×4,5-6 μ.*

Leptosphaeria vagabunda Sacc., *Syll.*, II, 31; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 465; Berl., *Pyren,, Icon. Fung.*, I, 59 (tab. XLV, fig. 1).

S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, XI, 22.

In ramulis *Pruni Laurocerasi* L. et *Tiliae vulgaris* Hayne, pr. Synthia (Castelo dos Mouros et Monserrate), leg. Silva Teixeira, aprili junioque, 1937.

Obs.: *Peritheciis usque 800 μ. diam., ascis 135-152×15-20 μ.; sporidiis saepe subdistichis vel raro monostichis, 25-35×9-12,5 μ.*

81) **Clypeosphaeria Notarisii** Fck., in Sacc., *Syll*, II, 90; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 562; Berl., *Pyren.*, *Icon. Fung.*, I, 26, tab. XVII, fig. 1.

Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 20.

In ramis emortuis *Punicae Granati* L., pr. Queluz, leg. Silva Teixeira, septembri, 1937.

Obs.: *Peritheciis plerumque sparsis, 400-600 μ.; ascis 145-175××10 μ.; sporidiis 17-24×5,5-7,5 μ.*

Pleospora herbarum (Pers.) Rabh., in Sacc., *Syll.*, II, 247 et 258 *(P. Syringae* Fck); Penz., *St. Bot. Agr.*, 342, tab. XXIX, fig. 3;

Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 504; Berl., *Fg. Moric.*, f. v, n. 13, tab. XI, fig. 7-12 et *Pyren.*, *Icon. Fung.* II, 19, tab. XXVII.

Exsicc. Thüm., *Myc. Univ.*, n. 1456; Br. et Cav., *Fg. Parass.*, n. 413, c. icon.

Sphaeria herbarum Pers., in Berk., *Cryptog. Port.*, 8; *P. herbarum* Rabh., in Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, II, 35 et III, 30; Nies., *ibid.*, IV, 11 et 12; Wint., *ibid.*, V, 16 et VI, 11; Berl. et Roum., *ibid.*, VII, 162; *S. herbarum* Pers., in Torr., *Fl. Cryptog. Nt. Port.*, 266; *P. herbarum* (Pers.) Rabh., in Berl., F. Sacc. et Roum., *Fl. Myc. Lusit.*, VIII, 5; Sacc., *ibid.*, X, 11, *Consp. Fung. Lusit.*, 40 et *Fl. Myc. Lusit.*, XII, 5; Alm., *Mycofl. Port.*, I, 27 (c. *P. Syringae* Fck.); Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.*, II, 191, III, 143 et 254; IV, 83, 137 et 221, V, 19, 52 et 338 et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 18; S. Cam., *Ibid.*, VI, 9; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 72 et 148; G. Mariani, *Fung. Port.*, 8; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VII, 14; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 26 et *Adic. Micofl. Lusit.*, 13; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VIII et IX, 25, X, 27 et XI, 23; S. Cam., Oliv. et Luz, *Mic. Lusit.*, I, 13.

In foliis *Fici rubiginosae* Roxb., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

Sociis *Macrophyllosticta Robertii* (Boy. et Jacz). S. Cam. et *Phyllosticta sycina* Trav.

** 82) **Leptosporella Dicksoniae** n. sp. (Tab. I, fig. 4-6).

Peritheciis superficialibus, liberis, solitariis, orbicularibus, saepe papillatis, excipulo crasso carbonaceoque, duriusculis, nigris, 210--270 μ. diam.; ascis octosporis, subcylindraceis oblongisve, interdum ventricosis, sursum rotundatis deorsumque attenuatis, breve pedicellatis, achrois, 66-82 $\times$ 9-13 μ.; paraphysibus copiosissimis, filiformibus ramosisque, septatis, longiusculis, ascos nimie superantibus; sporidiis fasciculatis (?) *vel tristichis, fusoideis, subcylindraceis vermiformibusve, primo integris incoloribusque, dein plurilocularibus chlorinisque, 3-9 septatis, non constrictis, utrinque plus minusve attenuatis, rectis, falcatis etiamque sinuosis, nubilosis, muco denso hyalinoque obvolutis, 39-62 $\times$ 3-4 μ.*

In cortice petiolorum *Dicksoniae squarrosae* Swz., pr. Synthia (Monserrate), leg. Carlos Luz, septembri, 1936.

Dothideaceae Nke.

Phyllachora Dactylidis Delacr., *Esp. Nouv.*, ap. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, VIII, (1892), 191, c. icon.; Sacc., *Syll.*, XI, 373.

S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, XI, 24.

In foliis *Dactylidis glomeratae* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

* 83) **Scirrhodothis Bambusae** (Turc.) Trott., in D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXIV, sect. I, 611; Turc., *Nv. Malat. Bamb.*, ap. *At. Instit. Bot. Pav.*, Ser. II, XVI (1916) 251, c. icon. (tab. XVIII).

In culmis *Phyllostachydis* sp., pr. Colares (Synthia), leg. Carlos Luz, septembri, 1937.

Socio *Melanconio Bambusae* Turc.

Hypocreaceae De Not.

* 84) **Nectria Desmazierii** De Not., in Sacc., *Syll.*, II, 482; *N. cicatricum* Desm., in Tul., *Sel. Fung. Carpol.*, III, 77; *N. Desmazierii* De Not., in Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 113; Sacc. et Syd., *Syll.*, XIV, 629.

In ramulis *Buxi sempervirentis* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, decembri, 1937.

Obs.: *Ascis 78-90 × 9,5-11,5 μ.; sporidiis 12-15 × 5,5 μ.*

** 85) **Calonectria eucalyptina** n. sp. (Tab. I, fig. 7-11).

Peritheciis superficialibus, caespitosis, gregariis, in series corticum longitudinales dispositis, globosis, rare ellipsoideis, plerumque laterum mutua pressione complanatis, poro rotundo latoque pertusis, aspectu nigro, extus luteo-brunneis, intus latericio vinosis vel pallidissime luteis subhyalinisque, 280-370 μ. diam.; ascis octosporis, subcylindraceis, interdum apice medioque incrassatis, sursum rotundatis deorsumque attenuatis, longe pedicellatis, achrois, 120-160 × × 17-32 μ.; paraphysibus fasciculatis filiformibus, gracilibus, sinuosis, simplicibus (an etiam ramulosis?), incoloribus, ascos superantibus; sporidiis tristichis vel subdistichis, fusoideis, rectis curvulisve, septemseptatis, non constrictis, utrinque attenuatis, stramineis subhyalinisve, 39-51 × 9,5-12 μ.

In cortice truncorum *Eucalypti* sp., pr. Synthia (Castelo dos Mouros) leg. Silva Teixeira, aprili, 1937.

86) **Gibberella Saubinetii** (Mont.) Sacc., *Syll.*, II, 554; Wint., *Pilze Deutschl.*, II, 102.

Botryosphaeria dispersa De Not., in Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, II, 32; *G. Saubinetii* (Mont.) Sacc., in Wint., *ibid.*, V, 12; Sacc., *ibid.*, X, 12, *Consp. Fung. Lusit.*, 41 et *Fl. Myc. Lusit.*, XII, 5; Torr., *Fung. Stub.*, III, 1; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 78.

In ramulis *Phaseoli vulgaris* L., pr. Synthia (Monserrate), leg. Silva Teixeira, novembri, 1937.

Obs.: *Peritheciis prorsus discretis, sessilibus vel subpedicellatis, caeruleo-amethysteis; ascis 58-78×9,5-11-5 μ.; sporidiis 19, 5-25,5× ×4-4,5 μ.*

87) **Epichloe Typhina** (Pers.) Tul., *Sel. Fung. Carpol.*, III, 24; Sacc., *Syll.*, II, 578; Wint., *Pilze Deutschl*, II, 145.

Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 29.

In foliis *Dactylidis glomeratae* L., pr. Mafra et Synthia (Parque da Pena) et in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

Obs.: *Ascis usque 240 × 11,5 μ.; sporidiis maximis 180 × 2 μ.*

Microthyriaceae Sacc.

* 88) **Seynesia nobilis** (Welw. et Curr.) Sacc., *Syll.*, II, 668; *Pemphidium nobile* Welw et Curr., *Fg. Angol.*, 283, c. icon. (tab. 17, fig. 12).

In petiolis foliorum *Cycadis revolutae* Thunb., pr. Synthia (Monserrate) leg. Silva Teixeira, octobri, 1937.

Obs.: *Peritheciis plerumque in maculas cineraes dispositis, solitariis vel geminatis etiamque confluentibus, dimidiatis, hemisphaericis, carbonaceis, nigris, 320-700 μ. latis; ascis octosporis, cylindraceis, rectis curvulisve, sursum rotundatis deorsumque attenuatis, subsessilibus, achrois, 105-125 × 9-13,5 μ.; paraphysibus copiosissimis, filiformibus, simplicibus interdumque bifurcatis* (?) *ascos superantibus, incoloribus; sporidiis monostichis, ellipsoideis et quandoque cylindraceis, uniseptatis non vel vix constrictulis, utrinque rotundatis, saepe grosse biguttatis, membrana irregulariter crassa, frequenter hinc inde tumefacta, pallide fulvescentibus, cum septo obscuriore, 13,5-20 × 7-10 μ.*

Lophiostomataceae Sacc.

* 89) **Platystomum compresum** (Pers.) Trav., var. **septemseptata** Sacc., in Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVII, 889; *Lophidium compressum* (Pers.) Sacc., var. *septemseptata* Sacc., *Syll.*, II, 711; Berl., *Pyren.*, *Icon. Fung.*, I, 17, tab. X, fig. 4.

In cortice ramulorum *Lonicerae etruscae* Santi, in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Silva Teixeira, novembri, 1937.

Obs.: *Ascis 120-140 × 13-18 μ.; sporidiis submonostichis vel subdistichis, 6-9 loculis, plerumque septemseptatis, medio constrictulis, 30-43 × 9-11 μ.*

Hysteriales (Crd.) Sacc. et Trav.
Hysteriaceae Crd.

90) **Tryblidium elevatum** (Pers.) Trav. et Spes. *Fl. Mic. Port.*, 80; *T. Hysterinum* Duf., in Sacc., *Syll.*, II, 740; *Tryblidiella elevata* (Pers.) Rehm., *Hyst.*, ap. Rabh. *Kryptog.-Fl.* III, 233.

Tryblidium Hysterinum Duf., in v. Niess. *Fl. Myc. Lusit.*, IV, 21; Berl., F. Sacc. et Roum., *ibid.*, VIII, 6; *Tryblidiella elevata* (Pers.) Rehm., in Torr., *Fung. Setub.*, II, 147; *Tryblidium elevatum* (Pers.) Trav. et Spes., *l. c.*, 80.

In truncis *Buxi sempervirentis* L., pr. Queluz, leg. Silva Teixeira, augusto, 1937.

* 91) **Gloniopsis Cisti** Rehm., in Sacc., *Syll.*, IX, 1118; *Hysterographium Cisti* (Rehm.) *Hyst.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, III, 18.

In truncis *Cisti* sp., pr. Synthia (Monserrate), leg. Silva Teixeira, octobri, 1937.

* 92) **Hysterographium Fraxini** (Pers.) De Not., var. **Oleastri** Desm., in Sacc., *Syll.*, II, 776.

In ramulis *Oleae europaeae* L., var. *Oleastri* (Hoffgg. et Lk.) DC., leg. Silva Teixeira, 1937.

Obs.: In Lusitania varietas hujus mycologicae speciei non relata fuit.

Lophodermium Pinastri (Schrad.) Chev., in Sacc., *Syll.*, II, 794; *Hysterium Pinastri* Schrad., ap. Sacc., *l. c.* II, 794.

L. Pinastri (Schrad.) Chev., in Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, I, 246; Berl., F. Sacc. et Roum., *ibid.*, VIII, 6; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*,

42; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 81; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 35; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VIII et IX, 30.

In foliis *Pini insignis* Dougl., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, aprili, 1937.

Sphaeropsidales (Lév.) Lind.

Sphaerioidaceae Sacc.

Phoma mutinensis D. Sacc., in Sacc. et Syd., *Syll.*, XIV, 876; Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VII, 832.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 85, n. 392.

S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 13.

In ramulis emortuis *Wistariae sinensis* DC., in Horto Botanico Conimbricae, leg. A. Moller; januario, 1910.

Socia *Diplodina Wistariae* Hollós.

Phoma psidiicola S. Cam., n. nom.; *P. Psidii* S. Cam. (nec P. Henn.), *Myc. Nv. Mycofl. Lusit.* Ign., III, 3, c. icon.

A *P. Psidii*. P. Henn. (*Syll.*, XXV, 106) satis differt.

Macrophyllosticta Robertii (Boy. et Jacz) S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, X, 42; *Phyllosticta roberti* Boy et Jacz., in Sacc., *Syll.*, XI, 476.

M. Robertii (Boy et Jacz.) S. Cam., in Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 380, n. 1668.

S. Cam., *l. c.* X, 42 et XI, 38.

In foliis *Fici religiosae* L. et *F. rubiginosae* Roxb., in Horto Coloniale et in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Garcia Cabral et Silva Teixeira, majo, 1937.

Sociis *Pleospora herbarum* (Pers.) Rabh. et *Phyllosticta sycina* Trav.

** 93) **Phyllosticta Cycadis** n. sp. (Tab. II, fig. 1-3).

Maculis plerumque apice foliorum dispositis, raro ellipsoideo--marginalibus, cinerescentibus, brunneocinctis, saepius magnis; pycnidiis epiphyllis, sparsis interdumque gregariis, primo diu tectis, dein poro rotundo parvuloque prominentibus, subglobosis, aliquantum depressis vel conoideis, contextu crasso, pseudoparenchymatico, cum cellulis grandiusculis, fuligineo-atris, 150-390 $\times$ 110-240 μ.; sporulis cylindraceis, continuis, rectis, utrinque rotundatis, biguttulatis hyali-

nis vel chlorinis, centro receptaculorum agglutinatis, tunc fulvis, in cirros exsilientibus, minutissimis, 2,5-3,5 × 2-2.5 μ.

In foliis *Cycadis revolutae* Thunb., in Horto Coloniale Olisipponis, leg. Garcia Cabral, aprili, 1937.

A *Phyll. Cycadina* Passer. satis differt.

* 94) **Phyllosticta Halstedii** Ell. et Ev., in Sacc., *Syll.*, X, 114; Allesch. *Sphaerioid.*, ap. Rabh. *Kryptog.- Fl.* VI, 91.

In foliis *Syringae vulgaris* L., pr. Colares (Synthia), leg. Carlos Luz, septembri, 1937.

Phyllosticta sycina Trav., in Sacc. et D. Sacc. *Syll.*, XVIII, 239.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 47, n. 206.

Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.*, IV, 221 et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 28; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 104.

In foliis *Fici repentis* Rottb. et *F. rubiginosae* Roxb., in Horto Coloniale et in Horto Instituti Agronomici Olisipponis, leg. Garcia Cabral et Silva Teixeira, majo, 1937.

Sociis *Pleospora herbarum* (Pers.) Rabl. et *Macrophyllosticta Robertii* (Boy. et Jacz.) S. Cam.

Obs.: *Maculis saepe marginalibus; pycnidiis ellipsoideis interdumque depresso-irregularibus, 150-350 × 100-120 μ.; sporophoris nullis vel vix distinctis; sporulis oblongis, subclavoideis etiamque exigue ellipsoideis, sursum rotundatis deorsumque attenuatis, plerumque bi-aliquoties triguttulatis, nubilosis, muco hyalino obvolutis, incoloribus, 7-10 × 2,5-3,5 μ.*

** 95) **Strasseria Rusci** n. sp. (Tab. II, fig. 4-6).

Pycnidiis amphygenis, numerosis, sparsis, primo tectis, dein poro rotundo minotoque (usque 10 μ. diam.) epidermidem erumpentibus, subglobosis vel ellipsoideis, excipulo membranaceo, crassiusculo, pseudoparenchymatico, per cellulas irregulares, fere polygonales instituto, carbonaceis, 70-140 μ. diam.; sporophoris non visis (an evanidis?); sporulis globosis, obovoideis obpiriformibusve, continuis, saepe vertice truncatis, sub apice setula una, aciculari-conoidea, obliqua et brevissima (5-8 μ) praeditis, granuloso-farctis, muco hyalino obvolutis, achrois, 9-13 × 7,5-9 μ.

In foliis subvivis aridisque *Rusci Hypoglossi* L., in Olisippone (Campo Grande), leg. Carlos Luz, junio, 1937.

Socio *Coniothyrio Hypoglossi* Mut.

Vermicularia herbarum West., in Sacc., *Syll.*, III, 226; Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VI, 502.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 152, n. 697.

Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 78; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, XI, 40.

In ramulis *Solani tuberosi* L., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Dr.ª D. Maria de Lourdes de Oliveira, novembri, 1937.

Coniothyrium concentrincum (Desm.) Sacc., var. **Pincenectiae** S. Cam., in Alm., *Mycofl. Port.*, 35; Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVIII, 307.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 307, n. 1381 (306).

Alm., *l. c.*, 35; Alm. et S. Cam., *Est. Mycol.*, ap. *Rev. Agron.* I, 24, c. icon.; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 105; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, XI, 41.

In foliis *Nolinae (Pincenectiae) recurvatae* Hemsl., in Horto Coloniale Olisipponis, leg. Garcia Cabral, aprili, 1937.

* 96) **Coniothyrium Hypoglossi** Mut., *Nv. Sp. Microm.*, ap. *At. Ist. Bot. Pav.*, ser. II, t. XVI (1916), 205, c. icon.; D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXV, 241.

In foliis subvivis aridisque *Rusci Hypoglossi* L., in Olisippone (Campo Grande, leg. Carlos Luz, junio, 1937.

Socia *Strasseria Rusci* n. sp.

Obs.: *Pycnidiis interdum solitariis, 80-135 μ. diam.; sporulis plerumque cylindraceis etiamque clavoideis, rectis vel lenissime curvulis, 6,5-12 $\times$ 3-4,5 μ.*

* 97) **Coniothyrium Tamaricis** P. Henn., in Sacc. et Trott., *Syll.*, XXII, 967.

In ramulis *Tamaricis tetrandrae* Pall., in Horto Botanico Polytechnicae Scholae Olisipponis (Facultate Scientiarum), leg. Silva Teixeira, julio, 1937.

A *C. Tamaricis* Oud. (Sacc. et Syd., *Syll.*, XVI, 909 et Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh. *Kryptog.-Fl.*, VII, 921) satis affine.

Obs.: *Pycnidiis quandoque gregariis, saepe depressis, sublenticularibus, 110-180 μ. diam.; sporulis plerumque ovoideis, assidue ellipsoideis interdumque subglobosis, nunquam centro guttula praeditis, hyalino-flavescentibus, 4-7 $\times$ 3-4 μ.*

98) **Diplodina Wistariae** Hollós, in Sacc. et Trott., *Syll.*, XXII, 1039.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 204, n. 925.

Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 63.

In ramulis emortuis *Wistariae sinensis* DC., in Horto Botanico Conimbricae, leg. A. Moller, januario, 1910.

Socia *Phoma mutinensi* D. Sacc.

Obs.: *Pycnidiis plerumque sparsis; sporulis 5-9 × 2,5-3 μ.*

Cryptostictis arbustivarum S. Cam., in S. Cam., Oliv. et Luz, *Myc. Lusit.*, I, 33; *C. Eriobotryae* S. Cam.. *Mycofl. Lusit.*, VIII et IX, 62, c. icon.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 367, n. 1626.

S. Cam., *l. c.*, VIII et IX, 62, c. icon., *C. arbustivarum* S. Cam., in S. Cam., Oliv. et Luz; *l. c.*, I, 33.

In foliis *Arbuti Unedonis* L., pr. Synthia (Parque da Pena) leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Sociis *Sphaerella maculiformi* (Pers.) Auersw. et *Septoria Unedonis* Rob. et Desm.

* 99) **Septoria leguminum** Desm., in Sacc., *Syll.*, III, 559; Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.* VI, 830.

Thüm.; *Myc. Univ.*, n. 2096.

In foliis, ramulis leguminibusque *Pisi sativi* L., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, majo, 1937.

Obs.: *Pycnidiis cum poro amplissimo; sporulis 23-45 × 3,5-4 μ.*

Septoria piricola Desm., in Sacc., *Syll.*, III, 487; Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.* VI, 829.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 254, n. 1147.

Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, III, 52; Wint., *ibid.* 18; Henr., *Veg. Ser. Ger.*, 166; Torr., *Fl. Cryptog. Nd. Port.*, 255; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 51 et *Fl. Myc. Lusit.*, XII, 11; Alm., *Agric. Contemp.*, XII, 45 et *Mycofl. Port.*, 37; Alm. et S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 54; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 113; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 19.

In foliis *Piri communis* L., pr. Castraleuca (Monsanto), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, julio, 1937.

Septoria Unedonis Rob. et Desm., In Sacc., *Syll.*, III, 493; Allesch., *Sphaerioid.*, ap. Rabh. *Kryptog.-Fl.*, VI, 732; Grv., *Sphaeropsid.*, *Brit.* Fg., I, 369.

Unam., *Esferopsid. Penins. Iber.*, 269, n. 1215.

Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, II, 58; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 51; Pest., *Fl. Myc. Mat. Mach.*, 118; Noack, *Port. Beob. Pflanz.*, XIV, 211; Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.* IV, 85 et *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 54; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 114; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 19; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 78 et *Adic. Micofl. Lusit.*, 25; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VIII et IX, 69.

In foliis *Arbuti Unedonis* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, majo, 1937.

Sociis *Sphaerella maculiformi* (Pers.) Auersw. et *Cryptosticti arbustivarum* S. Cam.

Nectrioidaceae Sacc.

* 100) **Sphaeronaemella Mougeotii** (Fr.) Sacc., *Syll.*, III, 617; Allesch., *Nectrioid.* ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VII, 297 et 306, c. icon.

In sarmentis corticatis *Hederae Helicis* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, novembri, 1937.

Polystigmina rubra (Desm.) Sacc., *Syll.*, III, 622; Allesch., *Nectrioid.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.* VII, 315, c. icon.

Alm., *Mycofl. Port.*, 38; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 114; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VII, 24 et VIII et IX, 70.

In foliis *Pruni* sp., pr. Castraleuca (Monsanto), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, julio, 1937.

Melanconiales (Crd.) Sacc. et Trav.

Melanconiaceae (Crd.) Sacc. et Trav.

* 101) **Gloeosporium Josephinae** D. Sacc., in Sacc. et Syd., *Syll.*, XIV, 1005; Sacc., *Not. Mycol.*, III, *Myc. Patav.*, ap. *Bull. Soc. Mycol. Fr.*, XII, 78; Allesch., *Melancon.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VII, 463.

In foliis *Cerei triangularis* Haw., in Horto Botanico Polytechnicae Scholae Olisipponis (Facultate Scientiarum), leg. Silva Teixeira, januario, 1937.

** 102) **Gloeosporium Kentiae** n. sp. (Tab. II, fig. 7-8).

In foliis, nunc labibus irregularibus, sparsis, dealbatis interdumque brunneo-cinctis, magnis, nunc sine maculis, veluti super petiolis; acervulis seriatis, gregariis, confluentibus, tunc amplicissimis (usque 1300 μ. latis), subepidermicis, ellipsoideis conoideisve, extus atro-castaneis, intus griseo-umbrinis, initio melleis, subinde nigris; conidiophoris simplicibus, subconoideis, erectis, sursum rotundatis, nobilosis, achrois, 12-20 × 3,5-4,5 μ.; conidiis cylindraceis etiamque subconoideis, rectis vel leniter curvulis, continuis, utrinque rotundatis, pluriguttulatis interdum granuloso-farctis, muco hyalino obvolutis, incoloribus, 15-27 × 4-7 μ.

In foliis petiolisque *Kentiae Belmoreanae* Becc., in Olisippone leg. D. Sára Lupi Nogueira, aprili, 1937.

* 103) **Melanconium Bambusae** Truc., *Nv. Malat. Bambú*, ap. *At. Instit. Bot. Pav.*, ser. II, t. XVI (1916), 251, c. icon. (tab. XVIII); D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXV, 581.

In culmis *Phyllostachydis* sp., pr. Colares (Synthia), leg. Carlos Luz, septembri, 1937.

Socia *Scirrhodothi Bambusae* (Turc). Trott.

** 104) **Amphichaeta Viburni** n. sp. (Tab. II, fig. 9-10).

Acervulis caulicolis, sparsis, erumpentibus, pulverulentis, globoso-depressis vel conoideis, pulvinatis, nigris, 440-670 μ. latis; paraphysibus numerosis, simplicibus, filiformibus, continuis, achrois longissimis; conidiophoris confusis, indistinctis; conidiis fusoideis, rectis, quinqueseptatis, haud constrictis, intra cellulas medianas fulvis et extimas conoideas hyalinis, in septulos atro-brunneis, utrinque unirostellatis, 30-37 × 11-14 μ.; ciliis tenuibus, arquatis incoloribus, parvulis, 7-10 μ. longis.

In ramulis *Viburni tini* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, aprili, 1937.

* 105) **Pestalozzia inquinans** Karst., nec Cke. et Harkn. *(Syll.* III, 748), in Sacc., *Syll.*, X, 487.

In foliis *Camelliae japonicae* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, augusto, 1937.

* 106) **Steganosporium piriforme** (Hoffm.) Crd., var. **hispanica** Frag., *Micromic. Esp. Cerd.*, 60; D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXV, 611.

In ramis *Aceris pseudoplatani* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, augusto, 1937.

Hyphales (Mart.) Sacc. et Trav.

Tuberculariaceae Ehrb.

* 107) **Dendrodochium roseum** Sacc., *Syll.*, IV, 650; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 445; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 39.

In ramulis *Astragali falcati* Lam., in Horto Botanico Scholae Polytechnicae Olisipponis (Facultate Scientiarum), leg. Silva Teixeira, decembri, 1937.

Sociis *Ellisiella Astragali* n. sp. et *Volutella ciliata* (Alb. et Schw.) Fr., var. *stipitata* (Lib.) Sacc.

Fusarium roseum Lk., in Sacc., *Syll.*, IV, 699; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 519; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 82.

Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 162; Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 50; S. Cam., *Mycofl. Lusit*, VIII, et IX, 80.

In cortice *Malvacearum*, in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Silva Teixeira, octobri, 1937.

Obs.: *Conidiis typice triseptatis.*

Stilbaceae Fr.

) **Antromyces (?) **Rhododendri** n. sp. (Tab. II, fig. 11-13).

Synnnematibus dense sparsis, cylindraceo-conoideis, simplicibus, erectis, rigidis, solidis, sursum capitatis, basi incrassata, atris, 520-570 × 45-60 μ.; hyphis fasciculatis, pluribus septatis, vertice undique divergentibus, fuligineis, conidiophoris ad apicem nodulosis; conidiis ex apice hypharum oriundis, catenulatis, initio globosis (5-10 μ. diam.), diu continuis hyalinisque, tandem diversiformibus etiamque irregularibus, saepe uniseptatis, haud vel vix constrictis, rarissime tricellularibus, utrinque rotundatis, membrana crassa obscurioribus, brunneo-luteis, 10-28 × 5-9 μ.

In floribus *Rhododendri* sp., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

Obs.: Conidiis maturis aliquoties uniseptatis, ut in specie

A. copridi Fres. *(Syll.,* X, 698) proinde ejusdem originis procedit.

An genus *Didymobotryum* Sacc. attinebit?

* 109) **Harpographium fasciculatum** Sacc., *Syll.*, IV, 619; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 369; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 172.

In ramulis *Pelargonii* sp., in Olisippone (Parque Eduardo VII), leg. Silva Teixeira, decebmri, 1937.

Dematiaceae Fr.

** 110) **Ellisiella Astragali** n. sp. (Tab. II, fig. 14-17).

Caespitulis punctiformibus, numerosissimis, erumpentibus, sparsis, hinc inde gregariis, convexiusculis, atris, 85-175 μ. largis; setulis copiosissimis, conoideis, rigidis, erectis, raro curvulis subulatisque, apice acutis interdumque pallidioribus, basi non incrassatis, parce septatis, fuligineis, 75-215 × 5,5-7 μ.; conidiophoris indistinctis, sicut videtur (?); *conidiis fusoideis, plerumque falcatis vel minus saepe rectis, continuis, utrinque acutatis, nubiloso-granulosis, hyalinis, 20-27 (rarissime usque 50 μ.) × 4-5 μ.*

In ramulis *Astragali falcati* Lam., in Horto Botanico Scholae Polytechnicae Olisipponis (Facultate Scientiarum), leg. Silva Teixeira, decembri, 1937.

Sociis *Dendrodochio roseo* Sacc. et *Volutella ciliata* (Alb. et Schw.) Fr.

111) **Arthrinium sporophleum** Kze., in Sacc., *Syll.*, IV, 279; Mas., *Brit. Fung.-Fl.*, III, 373; *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VIII, 638; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 249.

Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, III, 13; Wint., *ibid.* V, 22; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*, 55; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 122.

In caulibus *Scirpi Holoschoeni* L., γ) *australis* (L.) Koch., pr. Mafra, leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

112) **Coniosporium Agaves** Passer., in Sacc., *Syll.*, X, 571; Sacc. et Syd., *Syll.*, XVI, 1050; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 208.

G. Mariani, *Fung. Port.*, 13.

In foliis *Agaves americanae* L., in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Teixeira de Vasconcelos, octobri, 1937.

Polythrincium Trifolii Kze., in Sacc., *Syll.*, IV, 350; Mas., *Brit., Fung.-Fl.* III, 392; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VIII, 834; Ferrar., *Hyph., Fl. Ital. Cryptog.*, 352.

H. et P. Syd., *Pilzfl. Port.*, 154; Alm. et S. Cam., *Rev. Agron.*, I, 58; Noack, *Port. Beob. Pflanz.*, XIV, 211; Torr., *Fung. Stub.*, III, 4; Alm. et S. Cam., *Mycofl.-Lusit.*, III, IV et V, 63; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 124; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VII, 26 et VIII et IX, 84.

In foliis *Trifolii repentis* L., pr. Synthia, leg. Dr. Branquinho de Oliveira, junio, 1937.

* 113) **Helminthosporium microsorum** Sacc., in Sacc. et Syd., *Syll.*, XIV, 1085; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 56; Ferrar., *Hyph., Fl. Ital. Cryptog.*, 389.

In ramulis *Quercus Suberis* L., pr. Synthia (Castelo dos Mouros), leg. Silva Teixeira, aprili, 1937.

114) **Helminthosporium Mollerianum** Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, III., 11; Sacc., *Syll.*, IV, 416.

Thüm., *l. c.*, III, 11; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 125.

In truncis *Fici eriobotryoidis* Kunth et Bouché, pr. Synthia (Monserrate), leg. Silva Teixeira, septembri, 1936.

Obs.: *Conidiophoris 10-17,5 μ crassis; conidiis usque 106 μ. longis, raro majoribus.*

Cercospora depazeoides (Desm.) Sacc., var. **amphigena** S. Cam., in Alm. et S. Cam., *Mycofl. Port.*, ap. *Rev. Agron.*, I, 59; Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVIII, 606.

Alm. et S. Cam., *l. c.*, I, 59; Noack, *Port. Beob. Pflanz.*, XIV, 211; Alm. et S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 63; Trav. et Spes.. *Fl. Mic. Port., 127;* S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 22, VII, 26 et VIII et IX. 88.

In foliis *Sambuci nigrae* L., pr. Colares (Synthia) et in Horto Instituti Agronomici Olisipponis (Tapada da Ajuda), leg. Carlos Luz et Silva Teixeira, junio, 1937.

* 115) **Cercospora Petroseline** Sacc., in Sacc. et Trott., *Syll.*, XXII, 1423; *C. apii* Fres., var. *Petroselini* Sacc., *Syll.*, IV, 442; Lind., *Hyph.* ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 124; Ferrar., *Hyph., Fl. Ital., Cryptog.*, 436.

In foliis *Petroselini sativi* Hoff., pr. Tavira (Algarve), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, novembri, 1937.

* 116) **Cercospora Violae** Sacc., var. **minor** Rota-Rossi, *Micol. Berg.*, in *At. Ist. Bot. Pav.*, ser. II, t. XIII (1914), 119; Sacc. et Trott., *Syll.*, XXII, 1416.

In foliis *Violae odoratae* L., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, augusto, 1937.

Obs.: Varietas nova in Flora Mycologica Lusitanicae est.

Mucedinaceae Lk.

* 117) **Botryosporium pulchrum** Crd., in Sacc. *Syll.*, IV, 55; Lind.. *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, VIII, 115, c. icon.; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 619; c. icon.

In foliis *Capsici annui* L. et in ramulis *Piperis* sp., in Hortis Instituti Agronomici (Tapada da Ajuda) et Coloniale Olisipponis, leg. Dr.ª D. Maria de Lourdes de Oliveira et Dr. Branquinho de Oliveira, octobri novembrique, 1937.

* 118) **Volutella ciliata** (Alb. et Schw.) Fr. var. **stipitata** (Lib.) Sacc. (?), *Syll.*, IV, 683; Lind., *Hyph.*, ap. Rabh., *Kryptog.-Fl.*, IX, 484; Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 61, c. icon. (59).

In ramulis *Astragali falcati* Lam., in Horto Botanico Polytechnicae Scholae Olisipponis (Facultate Scientiarum), leg. Silva Teixeira, decembri, 1937.

Sociis *Dendrodochio roseo* Sacc. et *Ellisiella Astragali* n. sp.

Obs.: *Sporodochiis extus albido-ceraceis.*

* 119) **Oidium Begoniae** Puttem., in D. Sacc., Trav. et Trott., *Syll.*, XXV, 648.

In foliis *Begoniae* sp., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Dr. Branquinho de Oliveira, augusto, 1937.

Oidium Ceratoniae Com., *Critt. Agr.* 236; Sacc. et D. Sacc., *Syll.*, XVIII, 505; Ferrar., *Hyph. Fl. Ital. Cryptog.*, 597.

Alm., *Agric. Contemp.*, X, 172 et XI, 7; Noack, *Port. Beob. Pflanz.*, XI, 238; Alm., *Mycofl. Port.*, 43.

In foliis fructibusque *Ceratoniae siliquae* L., pr. Tavira (Algarve), leg. Guilherme Joaquim da Mata, majo, 1937.

Oidium quercinum (Mesn.) Thüm., var. **gemmiparum** Ferrar., *Hyph.*, *Fl. Ital. Cryptog.*, 600; *O. quercinum* Thüm., *Fl. Myc. Lusit.*, I, 233; Sacc., *Syll.*, IV, 44; Lind., *Hyph.*, ap. Rab., *Kryptog.-Fl.*,

IX, 724; *O. alphitoides* Griff., et Maubl., Bl. Ch. *(O. quercinum* Thüm.), ap. *Bull. Soc. Myc. Fr.*, XXVI, 137; *O. quercinum* (Mesn.) Thüm., var. *gemmiparum* Ferrar., in Sacc., et Trott., *Syll.*, XXII, 1249.

Fusidium quercicum Mesn., *Microf.*, 213; *O. quercinum* Thüm., l. c., I, 233; Sacc., *Consp. Fung. Lusit.*. 54; Alm., *Not. Path. Veg.*, ap., *Rev. Agron.*, V, 42 et VI, 109; Pest., *Oid. Carv.*, ap. *Rev. Agron.*, VI, 78; Alm. et S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, III, IV et V, 65; Trav. et Spes., *Fl. Mic. Port.*, 129; S. Cam., *Mycofl. Lusit.*, VI, 22; *O. quercinum* (Mesn.) Thüm., var. *gemmiparum* Ferrar., in S. Cam., *ibid.*, VII, 28; *O. quercinum* Thüm., in Frag., *Fl. Mic. Lusit.*, 42.

In foliis *Quercus* sp., pr. Synthia (Parque da Pena), leg. Silva Teixeira, junio, 1937.

Tab. I.

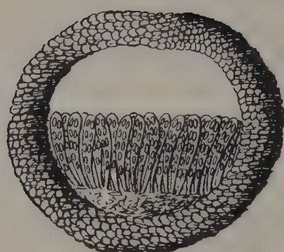
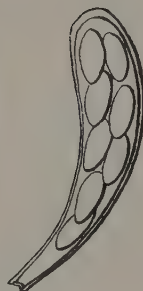


Fig. 1.





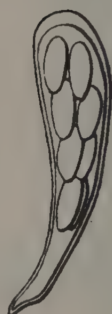


Fig. 2.

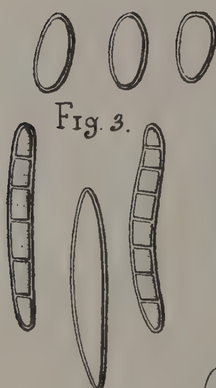


Fig. 3.







Fig. 5.

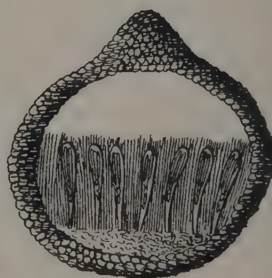


Fig. 4.



Fig. 6.

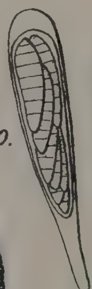


Fig. 10.



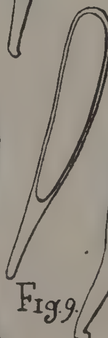


Fig. 9.



Fig. 8.



Fig. 11.

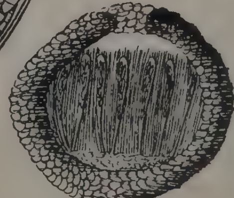
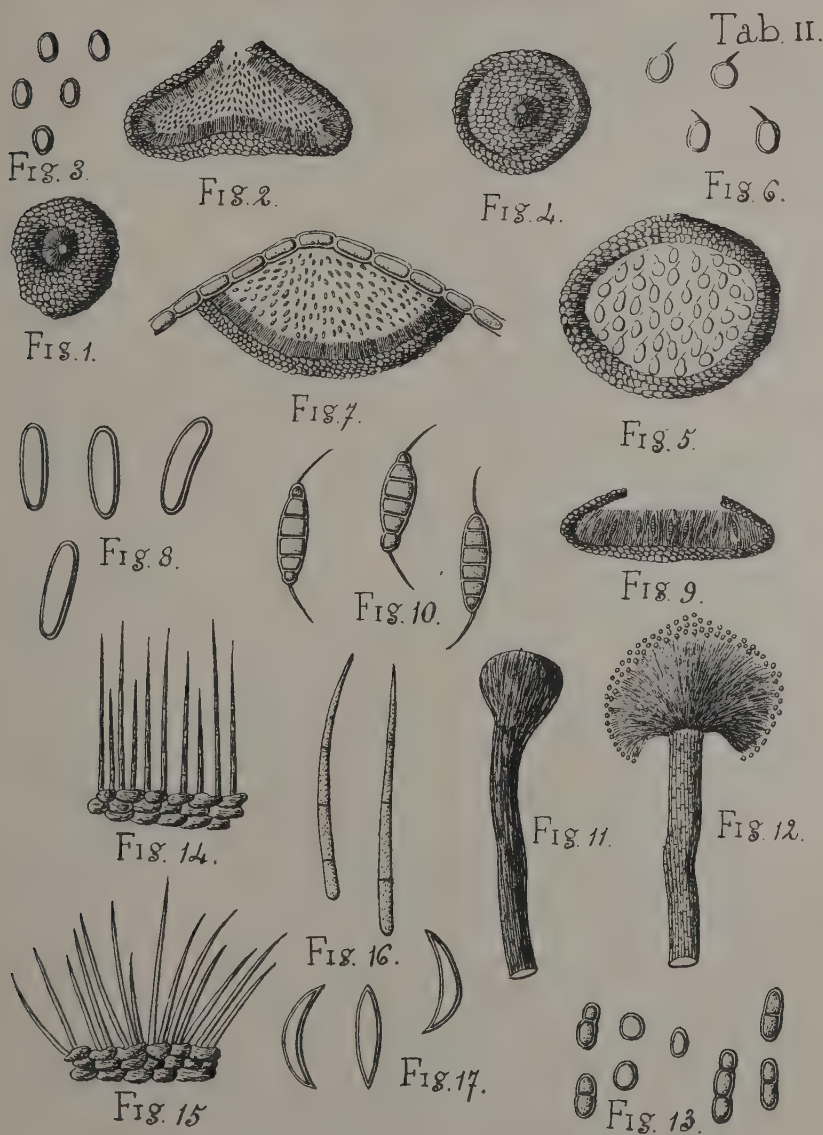


Fig. 7.


Tab. II.
Fig. 3.
Fig. 2.
Fig. 4.
Fig. 6.
Fig. 1.
Fig. 7.
Fig. 5.
Fig. 8.
Fig. 10.
Fig. 9.
Fig. 14.
Fig. 11.
Fig. 12.
Fig. 16.
Fig. 15
Fig. 17.
Fig. 13.

ESTUDOS SÔBRE A PUCCINIA ANOMALA ROST.

III. ACÇÃO DOS FACTORES AMBIENTES SÔBRE O COMPORTAMENTO DAS RAÇAS FISIOLÓGICAS

POR *BRANQUINHO D'OLIVEIRA*, ENG. AGR. (LISB.), PH. D. (CANTAB.)

INTRODUÇÃO

A importância do meio ambiente, principalmente dos factores temperatura e luz, sôbre o desenvolvimento das ferrugens, conhece-se desde os trabalhos de WARD (1902 b, 1905). Mais recentemente o facto tem sido notado por quási todos os investigadores que trabalham com êste grupo de fungos. Entre os que têm dedicado ao assunto especial atenção citaremos: APPEL & SCHEIBE (1931), COTTER & LEVINE (1932), GASSNER & FRANK (1934), GASSNER & STRAIB (1931 a, b), GORDON (1930, 1933), HART & ZALESKI (1935), HEY (1932), JOHNSON (1931), NEWTON & JOHNSON (1932), JOHNSTON & MAINS (1932), MAINS & JACKSON (1926), MELANDER (1931), MURPHY (1935), PETURSON (1930), ROBERTS (1936), RONSDORF (1934, 1935), STAKMAN & outros, (1919), STOCK (1931), STROED (1933) e WATERHOUSE (1929).

Tem-se verificado que, sob as condições ordinárias de trabalho nas estufas de campo, nem os dias muito quentes e luminosos de verão nem os dias curtos e frios de inverno, são convenientes para o trabalho de diferenciação fisiológica das ferrugens dos cereais.

WATERHOUSE (1929) faz notar: «Têm-se verificado importantes diferenças na reacção do hospedeiro ao ataque das ferrugens na estufa. Estas diferenças podem mesmo ser extremas. Susceptibilidade absoluta de uma ferrugem sob as condições de verão, pode transformar-se em resistência completa durante o inverno.» Êste autor verificou, trabalhando com uma raça australiana da *Puccinia anomala*, que as cevadas que no verão davam reacção de susceptibilidade (tipo 4), davam durante o inverno reacções que podiam ser agrupadas em três classes completamente distintas: susceptibilidade (reacção 4), resistência moderada (reacção 2 a 2 +, ou X - a X) e resistência (apenas vestígios de «flecking»).

Recebido para publicação em Janeiro de 1939.

GASSNER & STRAIB (1931 a) mostram também que algumas variedades de trigo que, às temperaturas normais, são altamente resistentes a certa raça de *Puccina triticina* se tornam muito susceptíveis a baixas temperaturas (6 a 12° C.). O mesmo autor (1931 b) refere-se ainda à influência dos factores ambientes, principalmente temperatura, sôbre a reação dos trigos à *Puccinia glumarum* e vai mesmo até afirmar que, consideradas tôdas as condições, muito poucas variedades de trigo se poderiam reputar imunes aos vários biotipos desta ferrugem.

HEY (1932) e RONSDORF (1934, 1935) encontraram também diferenças consideráveis de reacção para certas raças fisiológicas da *Puccinia anomala* sôbre algumas das cevadas diferenciadoras, quando a inoculação era feita a baixas temperaturas (10° C.) ou a altas temperaturas (30° C.). Por exemplo, HEY verificou que a *Hordeum hexastichum eurylepis* e a *H. hexastichum recens* inoculadas com a raça 1 desta ferrugem desenvolveram uma reacção tipo 4 às temperaturas médias de 10°, 18° e 25° C. e uma reacção tipo 1-2 à temperatura média de 30° C. A mesma raça, porém, inoculada em outras cevadas, dava origem ao fenómeno oposto, isto é, à diminuição da resistência do hospedeiro pelo aumento da temperatura ambiente. Finalmente outras cevadas mostraram maior susceptibilidade à temperatura média de 18-25° C. e maior resistência às temperaturas extremas de 10° e 30° C.

Os resultados obtidos por RONSDORF com a mesma raça fisiológica a temperaturas mais ou menos idênticas nem sempre concordam com os experiências the HEY. Assim para a raça 2 em Australisch Recka. HEY obteve as reacções 1, 1.2 e 1, respectivamente às temperaturas de 10°, 18° e 25° C., ao passo que RONSDORF encontrou para as mesmas temperaturas reacções dos tipos 3, 3.4 e 4.3, respectivamente. Idênticas incongruências se verificam entre os resultados dos dois autores em relação a outras raças fisiológicas noutras cevadas.

No decurso do presente trabalho verificou-se que o tipo de reacção de uma raça fisiológica na mesma cevada variava consoante a inoculação era feita no verão ou no inverno. Notaremos contudo que esta variação, como se verá mais tarde, nem sempre se pode relacionar directamente com a temperatura média deduzida das leituras extremas. Demonstra-se também que o número de horas que uma cultura está sujeita a uma certa e determinada temperatura

tem mais importância do que a máxima e a mínima observadas durante o período de incubação.

Os nossos ensaios sôbre a acção da temperatura foram realizados com as raças fisiológicas 12 e 17 da *Puccinia anomala* (OLIVEIRA, 1939). Realizaram-se também algumas experiências complementares com estas raças sôbre algumas cevadas para determinar o efeito da luz e da humidade sôbre a germinação dos uredosporos, sôbre a infecção e sôbre o tipo da reacção.

TEMPERATURA

a) — *Efeito sôbre a viabilidade dos uredosporos.*

A acção da temperatura sôbre a viabilidade dos uredosporos não pode ser considerada independentemente da acção da humidade. Os esporos mantidos numa atmosfera de elevada humidade perdem ràpidamente o poder de germinação, mesmo quando mantidos a temperaturas de 3° a 6° C. A temperaturas levemente superiores, entre 5° e 8° C., e em atmosfera saturada de humidade, alguns esporos conseguiram germinar, mas aqueles que o não fizeram debaixo destas condições, também se verificou posteriormente terem perdido o seu poder de germinabilidade quando submetidos às condições da experiência durante 10 a 20 dias. Por outro lado, se a temperatura se mantinha a 5°-8° C., mas a humidade relativa era levada a 50 %, os esporos guardados nestas condições mantinham a viabilidade por 13 meses, obtendo-se ao fim dêste tempo infecções normais em plantulas de Spratt Archer. Qualquer aumento de temperatura, porém, resultou no encurtamento da vida dos esporos, e, acima de 24° C., o período de vida era já muito curto. O período de longevidade dos esporos diminui também quando se reduz a humidade relativa para baixo do optimo. A temperaturas de 5°-8° C., com uma humidade relativa de 18.5 %, os esporos já não produziam infecção quando experimentados depois de 15 dias.

b) — *Efeito sôbre a germinação dos uredosporos*

As experiências de germinação dos uredosporos foram feitas em placas de Petri grandes, forradas com papel de filtro humede-

cido. Em cada uma das placas colocaram-se seis lâminas de microscópio, três com esporos de uma raça, três com esporos doutra. Para espalhar os esporos sôbre as lâminas sacudiam-se sôbre elas, com uma pancada brusca, as fôlhas de cevada com pústulas maduras; dum modo geral usaram-se pustulas com 2 ou 3 dias.

As primeiras séries de experiências foram realizadas às temperaturas de 5-8°, 21°, 24°, 28°, 31° e 35° C. durante 48 horas, submetendo-se uma placa de Petri a cada temperatura. Ao fim de 48 horas observou-se o estado de germinação e as placas deixaram-se à temperatura ambiente durante mais 24 horas, após as quais se tornou a notar a germinação. Concretizamos os resultados na Tabela seguinte:

Temperatura de incubação	Raça fisiológica 12		Raça fisiológica 17	
	Germinação depois de 48 horas de incubação	Germinação 24 horas mais tarde	Germinação depois de 48 horas de incubação	Germinação 24 horas mais tarde
5°- 8° C.	— — — —	+ + + +	— — — —	+ + + +
21° C.	+ + + +		+ + + +	
24° C.	+ + + +		+ + + +	
28° C.	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
31° C.	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —
36° C.	— — — —	— — — —	— — — —	— — — —

Diminuindo o período de incubação para 24 e 12 horas obtiveram-se resultados idênticos. Com o fim de determinar a temperatura crítica de germinação delineou-se uma nova série de ensaios em que as lâminas eram sujeitas a temperaturas de 24°, 25°, 26°, 27°, 28° e 29° C. Verificou-se então que às temperaturas de 24°, 25° e 26° C. a germinação se dava regularmente (nunca menos de 80 °/₀ de esporos germinados). A 27° só 38 °/₀ dos esporos num caso e 43 °/₀ noutro é que germinaram; e a 28° e 29° já não se observou germinação, tendo-se verificado que a exposição dos uredosporos por períodos de 3 a 4 horas a temperaturas de 28° ou 29° em câmara húmida, acarretava a perda da sua viabilidade. Estes resultados concordam muito de perto com os de WILHELM (1932), que afirma que a temperatura optima para a germinação dos uredosporos da *Puccinia anomala* está entre 10° e 25° C.

Numa experiência semelhante feita com aecidiosporos de infecções em *Ornithogalum umbellatum* verificou-se que a temperatura letal para estes, sob as condições de humidade atraz descritas, era de 26° a 27° C., isto é, mais baixa que a temperatura letal para os uredosporos.

c) — *Efeito da temperatura sôbre a infecção.*

Estas experiências foram realizadas com plantas de cevada envasadas e assim introduzidas dentro de grandes frascos de bôca larga forrados com fôlhas de papel de filtro humedecido. As plantulas, depois de inoculadas pelo processo usual, foram sujeitas às diferentes temperaturas por intervalos de 6, 24 e 48 horas, mantendo-se no entanto para tôdas a escuridão durante as 48 horas de incubação no frasco. Os resultados destas experiências apresentam-se nas duas tabelas seguintes:

Temperatura em centígrados	Número de horas que as plantas foram conservadas na câmara de temperatura constante					
	6 horas	24 horas	48 horas	6 horas	24 horas	48 horas
	Raça fisiológica 12			Raça fisiológica 17		
5-8°	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)	—	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)
21°	+ + n. c. (4)	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4)	+ + n. c. (4)	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4—)
25°	+ + n. c. (4)	+ + + p. c. (4)	+ + c. (3 + 4)	+ + — n. c. (4)	+ + + p. c. (4—)	+ + + f. c. (3)
28,5°	—	—	—	—	—	—
31°	—	—	—	—	—	—
35°	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)

Notação:

— ausência de infecção
+ pústulas raríssimas
+ pústulas muito dispersas
+ + pústulas dispersas
+ + + infecção plena
n. c. nenhuma clorose
p. c. pouca clorose
c. clorose
f. c. forte clorose
( ) tipo da reacção
(a) plantulas flácidas e mortas no fim da experiência.

Temperatura em centígrados	Número de horas que as plantas foram conservadas na câmara de temperatura constante			
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
	Raça fisiológica 12		Raça fisiológica 17	
5-8°	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)	+ n. c. (4)
21°	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4)	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4)
24°	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4)	+ + + n. c. (4)	+ + + p. c. (4-)
25°	+ + + p. c. (4)	+ + + c. (3 + 4-)	+ + + p. c. (4-)	+ + + c. (3 + 4-)
26°	+ + p. c. (4-)	+ + c. 3 +)	+ + p. c. (4-)	+ + + c. (3+)
27°	+ c. (3+)	+ f. c. (3)	+ f. c. (3)	+ f. c. (3-)
28°	—	—	—	—
29°	—	—	—	—

Dos resultados destas experiências parece poder concluir-se que a temperatura letal para os uredosporos da *P. anomala* é de 28° C. aproximadamente.

Para determinar se o micelio vegetativo da ferrugem também morria à temperatura de 28° C., delineou-se uma nova experiência em que as plantas eram transferidas, 48 horas após a inoculação, para um incubador especial com a parede superior de vidro e aquecido electricamente a 30° C.

A experiência foi feita com a raça 12 inoculada em Spratt Archer (seis vasos, cada um com oito plantas), que depois da incubação de 48 horas debaixo das campânulas à temperatura média da estufa (máx. 23°, min. 11° C.), foram divididos em 2 lotes, cada um de 3 vasos, ficando um lote na bancada da estufa às condições normais de temperatura e o outro mantido no incubador durante 15 dias a 30° C. Nove dias após a inoculação as plantas conservadas na bancada da estufa mostravam uma infecção do tipo 4, ao passo que as que estavam no incubador mostravam apenas sinais de clorose e manchas de necrose nas áreas inoculadas, isto é uma reacção do tipo O. Estas plantas, quando tiradas do incubador ao fim de 15 dias, foram colocadas na bancada da estufa e mantidas ao abrigo de infecções de baixo de cilindros de celofana, para determinar se a infecção viria a manifestar-se sob as novas condições. Mas ao fim de mais quinze dias só uma pústula se formou. Mais tarde a experiência foi recomeçada a uma temperatura controlada de 30°-31° C. com os mesmos resultados.

Parece pois que, embora a *P. anomala* suporte temperaturas

superiores a 36° C. durante algumas horas nos dias quentes, sob as condições normais da estufa, uma temperatura constante de 30° C. durante um período prolongado é letal para o micelio vegetativo.

Numa nova série de experiências empregaram-se cinco colecções de dois vasos cada, sendo tôdas as plantas inoculadas ao mesmo tempo e cada colecção sujeita a um tratamento diferente por um período de 10 dias. A primeira colecção foi mantida no incubador à temperatura constante de 30° C. A segunda colecção recebeu tratamento diferente em dias alternados: no 1.°, 3.°, 5.°, 7.° e 9.° dia manteve-se no incubador a 30° C. e nos outros dias na bancada da estufa à temperatura ambiente. A terceira colecção foi sujeita a períodos alternados de 12 horas no incubador e na bancada da estufa. A quarta colecção foi deixada apenas 6 horas no incubador e as restantes 18 horas de cada dia passavam-nas as plantas à temperatura ambiente da estufa. Finalmente a quinta colecção ou testemunha ficou sempre sôbre a bancada da estufa durante os dez dias da experiência. Os resultados vão resumidos no quadro seguinte:

Tempo diário que as plantas foram conservadas no incubador à temperatura constante nos 10 dias de experiência	INFECÇÃO RESULTANTE
0 horas (testemunha)	Infecção plena. Reacção tipo 4.
6 horas em cada dia	Infecção plena. Alguma clorose; reacção tipo 3 + 4-
12 horas em cada dia	Algumas plantas apresentavam a reacção heterogénea (X), outras reacção tipo 2 + 4-
24 horas em dias alternados	Uma das plantas apresentava reacção tipo X. Cinco plantas a reacção tipo 2, e duas das plantas, 0. 1.
Plantas conservadas permanentemente no incubador	Reacção tipo 0.

Esta experiência foi repetida algum tempo mais tarde com uma alteração. Inocularam-se no mesmo dia nove vasos, cada um com

dez plantulas de Spratt Archer e deixaram-se a incubar debaixo das campânulas durante as primeiras 48 horas. Um dos vasos, tomado para testemunha, foi retirado para cima da bancada da estufa e os restantes levados para o incubador onde se mantiveram a uma temperatura constante de 29.6° a 30.8° C. e todos os dias se ia retirando um vaso que era colocado na bancada às condições ordinárias de temperatura na estufa. Nenhuma das plantas mantida no incubador por mais de três dias desenvolveu pústulas e mesmo as do vaso que foi conservado à temperatura constante durante os três dias formou apenas raras pústulas e pequenas. As plantas que ficaram no incubador dois dias desenvolveram reacções dos tipos X e 3; as que estiveram apenas 24 horas mostraram resultados variáveis: duas apresentaram o tipo X de reacção, uma o tipo 3 + e as restantes 7 um tipo 3 + 4 —. As plantas do vaso testemunha desenvolveram uma infecção plena do tipo 4. Êstes resultados são muito semelhantes aos obtidos por NAOUMOVA (1935) com a *Puccinia triticina.*

Parece evidente que o tempo é um factor importante quando relacionado com a temperatura e que, ao considerar os resultados é necessário notar não só o número total de horas em que as plantas estão expostas a uma determinada temperatura mas também a distribuição destas horas. É possível que esta explicação justifique as discordâncias já referidas entre os trabalhos de HEY e os de RONSDORF (1934, 1935) realizados com a mesma forma fisiológica na mesma cevada e à mesma temperatura média. Parece-nos portanto que a significação da temperatura média é mínima e, no presente trabalho, ao resumir em Tabelas as reacções das raças fisiológicas, não mencionamos a temperatura média a que decorreu a experiência. Não será demais, por isso, salientar que, como já fez notar WATERHOUSE (1929),: «desde que a determinação das raças fisiológicas das ferrugens se baseia na susceptibilidade ou resistência de plantulas na estufa, o «control» das condições ambientes torna-se imperioso.»

LUZ

Os vários aspectos do problema do efeito da luz sôbre o tipo de reacção dos cereais à infecção pelas ferrugens, têm sido estudados cuidadosamente nos últimos anos. A maior parte dos inves-

tigadores que trataram o assunto são concordes em admitir que a luz desempenha um papel muito importante no fenómeno da infecção.

JOHNSTON (1931), HART & ZALESKI (1935) e ainda outros autores pensam que a luz forma um complexo com outros factores ambientes e que o sistema parasita-hospedeiro depende mais dêste complexo do que de qualquer dos factores independentemente.

JOHNSON liga a intensidade luminosa com a temperatura e dá uma explicação gráfica do efeito dêstes dois factores no desenvolvimento da reacção heterogénea em certas variedades de trigo inoculadas com determinadas raças fisiológicas de *Puccinia graminis*. No seu gráfico JOHNSON representa as temperaturas em abscissas e a luz em ordenadas. Ambos os factores são expressos em três graus de intensidade, baixa, média e alta. A baixas intensidades de temperatura e de luz as plantas foram resistentes; a altas intensidades de luz e temperatura verificou-se susceptibilidade; com intensidades médias de luz e de temperatura apareceu a reacção heterogénea (tipo X). Mas quando a intensidade luminosa era baixa e a temperatura alta verificava-se o aumento da susceptibilidade, ao passo que com alta intensidade luminosa e baixa temperatura a reacção resultante era heterogénea (tipo X).

Embora estes resultados se não possam generalizar é já interessante notar que o trabalho realizado tende a mostrar que o tipo final de reacção depende da intensidade luminosa, da duração do período luminoso e da periodicidade dos intervalos de luz e escuridão.

HART & FORBES (1935) estudou o efeito da luz e da escuridão na ocasião da inoculação e durante os estados iniciais da infecção, tanto na penetração do tubo germinativo, como no ulterior desenvolvimento da infecção, no caso de diferentes ferrugens. Estes autores concluem que a incidência e a severidade da infecção nem sempre são afectadas da mesma maneira. O efeito da luz também varia conforme o hospedeiro considerado. Assim, a escuridão após a inoculação «não impediu a infecção pela *Pucinia coronata* nem afectou o seu normal desenvolvimento no caso da aveia «Gopher»; mas já na variedade «Victoria» a intensidade do ataque pela *Puccinia coronata* foi levemente reduzida. O efeito da escuridão na infecção pela *Puccinia graminis tritici* também sofreu variações conforme a variedade de trigo e a forma de ferrugem

empregada. A intensidade da infecção na variedade susceptível Marquis foi diminuida pela escuridão, mas o efeito foi menos marcado sôbre a infecção da variedade resistente Marquillo.»

MELANDER (1931), JOHNSON (1931), NEWTON & JOHNSON (1932), HEY (1932), FORWARD (1932), BEVER (1934), e HART & ZALESKI (1935), verificaram também que se a luz faltava por períodos curtos, a expressão da reacção diferia muito pouco e que muitas vezes apenas se verificava um ligeiro prolongamento do período de incubação. Estes autores e já antes deles FROME (1913) e MAINS (1917) mostraram que êste atrazo no período de incubação é em geral equivalente ao período de escuridão. FORWARD, contudo, faz notar que «o período de retardamento excede freqüentemente o período de escuridão». Não obstante é comum observar-se que, quando os dias são muito curtos ou quando se prolonga artificialmente o período de luminosidade, se notam grandes diferenças que chegam a transformar a susceptibilidade em resistência. Êste facto foi claramente evidenciado por JOHNSON (1931), NEWTON & JOHNSON (1932), HEY (1932), FORWARD (1932) and BEVER (1934). Apesar disso o trabalho de FORWARD mostra que esta reacção é apenas local e que «a menos que os tecidos do hospedeiro ou o micelio do fungo tenham sido afectados de uma forma irreversível» o fungo é sempre capaz de se desenvolver secundàriamente sob a forma característica dessa ferrugem num hospedeiro congenial. Esta autora mostra também que as fôlhas destacadas da planta reagem diferentemente à escuridão, visto que não houve sinais nítidos da hipersensitividade mostrada pelas plantas mantidas permanentemente na escuridão. Além disso as fôlhas destacadas permitiram um melhor e mais rápido desenvolvimento da uredínea do que se verificou nas fôlhas correspondentes ligadas à planta».

Estes resultados foram confirmados por STEINER (1933). Êste autor cortou as fôlhas da planta pouco tempo antes da inoculação. Contudo, quando as fôlhas eram separadas da planta 4 dias antes da inoculação o período da incubação era retardado em relação ao das testemunhas.

LEVINE (1923) and MELANDER (1935) também pensam que a qualidade e a intensidade da luz pode afectar a forma e o tamanho dos uredosporos.

Muitos autores referem-se à produção de «ilhas verdes» à

roda das pústulas de ferrugem, em fôlhas cloróticas por ausência ou baixa intensidade de luz.

No presente trabalho tentou-se verificar se a *Puccinia anomala* se comportava semelhantemente às ferrugens usadas pelos investigadores anteriores e também se o tempo de exposição à luz afectaria o tipo de reacção apresentado pelos diferentes diferenciadores.

a) — *Efeito da luz sôbre a germinação dos uredosporos e dos aecidiosporos.*

A germinação dos uredosporos e dos aecidiosporos da *Puccinia anomala* não parece ser afectada pela luz.

Sempre que se encontrou qualquer diferença entre a germinação das testemunhas e do material experimentado veio a verificar-se que essa diferença era devida a outros factores, tais como temperatura ou falta de humidade.

A iluminação directa pela luz do sol não impediu a germinação. Às vezes os uredosporos sujeitos à luz solar debaixo de campânulas de vidro, não germinaram; mas veio posteriormente a verificar-se que sob essas condições a temperatura alcança fàcilmente 36° e 42° C. o que só por si é suficiente para explicar os resultados

b) — *Efeito da luz sôbre a penetração do fungo nos tecidos do hospedeiro.*

Verificou-se que a infecção das cevadas de HEY e de MAINS apresentava mais ou menos a mesma intensidade quere as plantas fôssem incubadas na escuridão ou à luz do dia durante as primeiras 48 horas. Mesmo quando as plantas se conservavam durante a noite anterior à inoculação na câmara escura e eram inoculadas debaixo destas condições, a infecção resultava com a mesma intensidade. Verificou-se posteriormente que o fungo era capaz de forçar a sua entrada através de estomas fechados.

c) — *Efeito da luz sôbre o tipo de reacção e sôbre o período de incubação.*

Estas experiências foram realizadas com algumas das cevadas de HEY e de MAINS inoculadas com a raça fisiológica 17, que é uma das raças de reacções mais constantes e mais bem definidas. Em cada vaso deixaram-se duas plantas por inocular como testemu-

nhas. Durante os períodos de iluminação os vasos eram conservados na estufa à luz natural do dia. Durante os períodos de escuridão transferiam-se para uma divisão subterrânea por debaixo da estufa. Mais tarde empregou-se uma grande caixa de zinco para os períodos de escuridão, a qual foi construída de forma a evitar completamente a entrada da luz.

A primeira tentativa foi realizada na segunda metade de Julho de 1934. As plantulas em três séries de vasos foram inoculadas ao mesmo tempo e sujeitas aos seguintes tratamentos:

a) Condições normais de luz na estufa todo o tempo.
b) 24 horas na escuridão e condições normais de luz na estufa o resto do tempo.
c) 48 horas na escuridão e condições normais de luz na estufa o resto do tempo.

Na manhã do sétimo dia após a inoculação as plantas da primeira série apresentavam pústulas abertas (nas cevadas susceptíveis — Lichtis Lechtaler e *Hordeum vulgare pallidum)* e uma reacção heterogénea tipo X nas cevadas Bolivia e Juliaca. Na tarde dêsse mesmo dia apareceram as pústulas nas plantas da segunda série. Na terceira série as pústulas apareceram um dia mais tarde nas plantas susceptíveis e dois dias mais tarde a reação heterogénea tipo X aparecia nas cevadas Bolivia e Juliaca. Dez dias depois da inoculação, contudo, as plantas das diferentes séries estavam indistinguíveis.

Os resultados obtidos na primeira série de experiências fazem sugerir que o tempo de escuridão concedido às plantas não era suficiente para induzir alterações no tipo de reacção. Inoculou-se então uma nova série de 5 vasos que foram sujeitos respectivamente, aos seguintes tratamentos:

a) Condições normais de luz na estufa todo o tempo.
b) 3 dias na escuridão e condições normais de luz na estufa o resto do tempo.
c) 5 dias na escuridão e condições normais de luz na estufa o resto do tempo.
d) 7 dias na escuridão e condições normais de luz na estufa o resto do tempo.
e) 9 dias na escuridão e retiradas depois para a luz normal da estufa.

CEVADAS	Testemunhas	3 dias na escuridão	5 dias na escuridão	7 dias na escuridão
Hord. hexastichum recens	4 (7)	c. 3+4- (10)	i. v. 2- (13)	f. s.
Australische Recka	f. c., n. 1.2 (8)	f. c., p. n. 1 (10)	m. n. 0	f. s.
Lichtis Lechtaler	4 (7)	p. c. 4 (9)	i. v. 3+ (12)	f. s.
Hordeum vulgare speciale.	f. c., n. 1 (8)	f. c., n. 0.1 (11)	s. 0	f. s.
Aegyptische 4-zeilige	f. c., n. 0.1 (8)	c., n. 0.1 (11)	d. 0	f. s.
Hordeum vulgare pallidum (Sudan) . .	p. c. 4 (7)	c. 3+4-(10)	i. v. 3- (13)	f. s.
Breustedts Schladener	c., n. 1+2-(8)	m. n., m. C 0	d 0	f. s.
Oderbrucker C. I. N.º 940	f. c. 2 (7)	f. c., d. 0.1 (11)	d 0	f. s.
Quinn C. I. N.º 1024 . . .	—	m. c., n. 0	d 0	f. s.
Featherston C. I. N.º 1120 . . .	f. c. 2 (7-8)	f. c. 1 (12)	s 0	f. s.
Juliaca C. I. N.º 1114 . . .	m. c. m. X (7)	f. c. X, 2+3-(10)	pequenas ilhas verdes 0.1	f. s.
Malting C. I. N.º 1129. . . .	f. c. 2 (7-8)	f. c. 1 (12)	s 0	f. s.
Bolívia C. I. N.º 1257. . . .	X (7)	X (10)	pequenas ilhas verdes, 0.1	f. s.

Notação:

p. c. — Área infectada apresentando pouca clorose.
c. — » » » clorose.
f. c. — » » » forte clorose.
m. c. — » » » manchas cloróticas.
m. n. — » » » manchas necróticas.
p. n. — » » » pouca necrose.
n. — » » » necrose.
f. s. — » » flácida, secando mais tarde.
s. — » » secando mais tarde.
i. v. — Ilhas verdes rodeando as pústulas.
( ) — O número entre parêntesis indica os dias que as pústulas levaram a aparecer.

Estas plantas foram inoculadas no dia 13 de Agôsto de 1934, sendo as temperaturas máxima e mínima da estufa durante os 11 dias que se seguiram, respectivamente, 23.5° e 19.5° C.

As plantas conservadas na escuridão durante 3 dias apresentavam-se de um verde pálido, mas só as que foram conservadas fora da luz 5 dias ou mais mostraram verdadeira clorose. As plantas conservadas 7 dias na escuridão apesentavam uma côr amarela muito clara e as áreas infectadas estavam flácidas, secando depois quando restituidas às condições normais da estufa; algumas destas plantas restabeleceram-se na estufa após algum tempo, outras morreram pouco depois. Da série conservada 9 dias na escuridão tôdas as plantas ficaram mais ou menos flacidas e as fôlhas testemunhas (não inoculadas) estavam completamente brancas; tais plantas nunca se restabeleceram. Os resultados desta série de experiências estão resumidos na tabela anterior.

Experiências posteriores levadas a efeito com as cevadas *H. hexastichum recens*, *H. vulgare pallidum*, Lichtis Lechtaler, Australische Recka, *H. vulgare speciale* Aegyptische 4-zeilige e Bolivia, vieram mostrar a influência da falta de luz sôbre plantas já no decurso da infecção.

Inocularam-se quatro séries de plantas as quais foram deixadas durante os primeiros 6 dias da incubação sob as condições naturais de luz na estufa. Depois dêste período cada série recebeu o seguinte tratamento:

a) continuou na bancada da estufa (testemunha).
b) 3 dias na escuridão.
c) 5 dias na escuridão.
d) 7 dias de escuridão.

As séries b), c) e d), foram trazidas à luz todos os dias durante uns minutos para serem observadas. Não se notou qualquer diferença na data do aparecimento das pústulas que apareceram em tôdas as séries ao sétimo dia após a inoculação. Nos dois dias seguintes o desenvolvimento da reacção manteve-se normal, apenas algumas cevadas, principalmente Lichtis Lechtaler e Australische Recka, deixaram de apresentar clorose na área infectada. Em Australische Recka a reacção passou a ser 2 + e em Bolivia passou

a 3 + 4-. Nas cevadas resistentes como *Hordeum vulgare speciale* e Aegyptische 4-zeilige, a reacção não mudou, mas verificou-se que algumas das pústulas eram maiores do que usualmente. Na série que esteve 5 dias na escuridão as variedades mais susceptíveis apresentavam as áreas infectadas absolutamente verdes, ao passo que o resto da fôlha e as testemunhas estavam cloróticas. Mesmo nas cevadas resistentes, como *H. vulgare speciale* e Aegyptische 4-zeilige, sempre que se formaram pequenas pústulas, estas apareciam rodeadas de uma ilha verde. Em Bolivia formou-se uma larga ilha verde rodeando os aneis necróticos. Na série que esteve sete dias na escuridão, as fôlhas não inoculadas ficaram amarelo pálidas ou brancas e muitas vezes flácidas; contudo, nas variedades susceptíveis as áreas inoculadas permaneciam verdes embora a côr fôsse mais clara do que nas plantas correspondentes da série de 5 dias; nas variedades resistentes só se verificou necrose. As fôlhas infectadas das plantas desta série morreram quási tôdas em poucos dias.

Fez-se ainda uma outra experiência durante êsse verão, com o fim de comparar o efeito da escuridão sôbre plantas com os primeiros sinais de infecção *(flecking)* a temperaturas de 5-8° C. e a temperaturas de 20-24° C. Usaram-se três séries de vasos das variedades Lichtis Lechtaler, *H. vulgare pallidum* e Spratt Archer. As plantas foram mantidas debaixo das campânulas durante 48 horas depois da inoculação e transferidas depois para a bancada da estufa até ao aparecimento dos primeiros sinais de infecção *(flecking)*, ou seja até ao quarto dia depois da inoculação. A série destinada a ser testemunha ficou sôbre a bancada o resto do tempo e as outras duas retiradas para a escuridão, uma metida num refrigerador onde a temperatura se conservou a 5-8° C. a outra para uma caixa no laboratório onde a temperatura era 20-24° C. Ao fim de 5 dias os vasos das três séries foram reunidos para comparação do tipo de reacção. As pústulas apareceram ao fim de 7 dias nas plantas testemunhas e ao fim de 9 ainda não havia sinais de pústulas nas que tinham sido levadas para a escuridão. As plantas mantidas no refrigerador apresentavam uma côr verde muito mais clara do que as testemunhas mas as que tinham ficado à temperatura ambiente estavam inteiramente cloróticas, com excepção da côr verde das zonas infectadas. Das plantas conservadas no refrigerador tôdas se restabeleceram quando restituídas às condições normais de luz e as

pústulas apareceram quatro dias depois. Das que tinham sido conservadas à temperatura ambiente só algumas se restabeleceram e as pústulas nessas só apareceram 6 dias depois das plantas terem sido mudadas para a luz.

HUMIDADE

Não foi possível estudar o efeito da humidade sôbre o tipo de reacção. Segundo HEY (1932) parece, porém, que a humidade não é um factor importante uma vez iniciada a infecção. Êste autor verificou que as pústulas se desenvolviam normalmente em plantas mantidas a uma humidade relativa de 40 $^0/_0$ depois de terem permanecido as primeiras 48 horas debaixo das campânulas.

No presente estudo considerou-se apenas a influência da humidade sôbre a germinação dos esporos da *Puccinia anomala* e sôbre a infecção de plantulas de cevada.

a) — *Material e Métodos.*

As humidades controladas foram obtidas por meio de diferentes concentrações de ácido sulfúrico, segundo o processo descrito por STEVENS (1916).

Para o estudo da germinação dos uredosporos empregaram-se frascos de bôca muito larga, com rôlhas esmeriladas, de forma a poderem-se introduzir lâminas com os esporos espalhados, que ficavam suspensas por meio de suportes de arame. Esta série de experiências foi realizada com as raças 12 e 17, preparando-se duas lâminas com esporos de cada raça para cada uma das humidades relativas. Os esporos para êste fim foram colhidos de pústulas com 2 ou 3 dias de idade e colocados nos frascos logo que se acabavam de espalhar nas lâminas sêcas.

Para determinar a influência da humidade na infecção da cevada durante o período de incubação preparou-se uma série de vasos de vidro para os quais se obteve uma cobertura cortando um disco de uma placa de parafina a qual se soldava aos bordos do frasco por meio de um canivete aquecido ou com parafina

derretida. No disco fizeram-se várias aberturas retangulares também com a lâmina de um canivete aquecido. Colocando o frasco perto da caixa ou vaso onde as plantas estavam tornou-se fácil introduzir as fôlhas nas aberturas depois de devidamente inoculadas. Era necessário cuidado, no entanto, para que as fôlhas se não tocassem, nem tocassem nas paredes do frasco, e depois taparam-se os intervalos com vaselina neutra.

b) — *Resultados experimentais.*

O primeiro ensaio de germinação dos uredosporos foi realizado a uma temperatura entre 19 e 20° C. empregando 10 diferentes gradações de humidade desde a saturação até à humidade relativa de 18.5 %. Os resultados vão resumidos na tabela seguinte:

Humidade relativa aproximada %	Tensão do vapor a 20° C. (mm. Hg.)	Deficit de saturação a 20° C.	Germinação ao fim de 48 horas	Ensaio de germinação em atmosfera saturada de humidade
100.00	17.30	0.0	+ + + +	—
80.50	14.00	3.4	+ + + +	—
76.70	13.30	4.1	+ + — —	+ + + +
72.90	12.60	4.8	+? — — —	+ + + +
68.00	11.80	5.6	— — — —	+ + + +
63.10	11.00	6.4	— — — —	+ + + +
58.30	10.10	7.3	— — — —	+ + + +
45.00	7.70	9.7	— — — —	+ + + +
33.00	5.80	11.6	— — — —	+ + + +
18.50	3.00	14.4	— — — —	+ + + +

Esta experiência foi repetida mais tarde empregando apenas humidades relativas entre 82.5 % e 63.1 %. A temperatura oscilou entre 20 e 22° C. durante a experiência. A seguir vão resumidos os resultados:

Humidade relativa aproximada %	Tensão do vapor a 20° C. (mm. Hg.)	Deficit de saturação a 20° C.	Germinação ao fim de 48 horas	Ensaio de germinação em atmosfera saturada de humidade
100.00	17.3	0.0	+ + + +	———
72.30	14.3	3.1	+ + + —	+ + + +
80.50	14·0	3.4	+ + + —	+ + + +
78.70	13.7	3.7	+ + + —	+ + + +
76.70	13.3	4.1	+ + +? —	+ + + +
74.60		4.4	+ + — —	+ + + +
72.50	12.6	4.8	+ — — —	+ + + +
70.40	12.2	5.2	— — — —	+ + + +
67.00	11.8	5.6	— — — —	+ + + +
65.00	11.4	6.0	— — — —	+ + + +
63.10	11.0	6.4	— — — —	+ + + +

Notação:

++++ mais do que 80 % de esporos germinados.
+++— entre 50 e 80% de esporos germinados.
++—— entre 30 e 50% de esporos germinados.
+——— menos do que 30% de esporos germinados.

Os resultados experimentais mostram que a humidade relativa que inibe a germinação dos uredosporos da *Puccinia anomala* está entre 70.5 % e 72.5 % sob as condições de temperatura da presente experiência.

A experiência destinada a determinar a humidade relativa necessária para se dar a infecção de fôlhas de Spratt Archer foi realizada empregando os frascos já atraz descritos. Os resultados foram os seguintes:

Humidade relativa aproximada %	Resultado da inoculação depois de 15 dias
100.00	Infecção plena.
82.30	Infecção plena, embora não tão densa.
78.70	Infecção plena, embora não tão densa.
76.70	Infecção plena, embora não tão densa.
72.50	Infecção ligeira.
70.40	Algumas pústulas dispersas.
68.00	Não houve sinais de infecção.
65.50	Não houve sinais de infecção.
63.10	Não houve sinais de infecção.

Comparando os resultados desta experiência com os da anterior parece à primeira vista que sob as condições da segunda experiência a germinação teve lugar a uma percentagem mais baixa de humidade. Mas torna-se obvio que esta diferença é devida à humidade que se acumula à superfície das fôlhas devida à transpiração. Posteriormente veio a confirmar-se esta hipótese durante uma experiência similar levada a efeito com balões de Erlenmeyer, em que as fôlhas reunidas à entrada do longo gargalo do frasco condensavam uma humidade que permitiu a infecção mesmo nos casos em que a mistura reguladora da humidade se supunha assegurar uma humidade relativa de 63.1 $^0/_0$. Contudo, mesmo nestes casos, a ponta das fôlhas que ficava livre sôbre o líquido nunca apresentou sinais de infecção.

Além dos factores ambientes considerados neste trabalho, outros, como o conteúdo em CO_2 do ar — GASSNER (1927), GASSNER & STRAIB (1929), GASSNER & FRANKE (1938) — a constituição mineral do solo — WARD (1902), HASSEBRAUK (1930), GASSNER & HASSEBRAUK (1931, 1934), GASSNER & GOEZE (1932) — e ainda o conteúdo do solo em humidade — HASSEBRAUK (1934) — têm sido considerados como tendo uma influência definida sôbre o tipo de reacção dos cereais às ferrugens.

Passando em revista os resultados apresentados pelos diferentes investigadores que se ocuparam do assunto saltam à vista as discordâncias entre as conclusões tiradas nos diferentes casos. É claro que estas conclusões não se podem generalizar e que elas devem ser consideradas apenas como a resposta do complexo hospede-parasita ao complexo dos factores do ambiente — temperatura, luz, humidade, constituição do solo e do ar, factores geográficos, etc. É necessário não esquecer que cada variedade ou cada grupo de variedades agronómicas de cereais e cada grupo de biotipos geográficos de gramíneas espontâneas têm os seus requisitos ecológicos próprios, subordinados a factores genéticos. Por isso também o próprio hospedeiro reagirá diferentemente às diferentes condições do ambiente.

Não tentaremos discutir aqui o problema sob o ponto de vista fisiológico, embora estejamos convencidos que êste aspecto é da maior importância. Recordaremos apenas alguns factos do conhecimento geral de todos. Sabe-se, por exemplo, que uma variedade

de trigo considerada boa para a Sibéria não tem valor para os trópicos e que, muitas vezes um cereal de inverno não se desenvolve bem quando cultivado no verão. Estas diferenças são o resultado de perturbações metabólicas induzidas pelas alterações do ambiente. Agora ocorre preguntar: até que ponto esta alteração do metabolismo do hospedeiro afecta o parasita? A resposta a esta pregunta envolve um problema dos mais largos, que não pode ser resolvido sem a colaboração dos fisiologistas.

Não teremos que considerar sòmente o efeito indirecto exercido pelo ambiente sôbre a ferrugem através do hóspede, mas também o efeito exercido directamente sôbre o parasita. O que se disse a respeito do hospedeiro pode alargar-se às diferenças raças fisiológicas das ferrugens. «Tanto o parasita como o hospedeiro são nìtidamente afectados pelo ambiente, mas mais importante do que tudo, é o efeito sôbre a interacção entre os dois. E o efeito exacto do ambiente varia para cada hóspede e para cada raça fisiológica.» (STAKMAN & HART, 1936).

Tendo sempre em mente êstes princípios gerais não é difícil de compreender quão complexo o problema se apresenta e com que cuidado devemos considerar os resultados experimentais antes de generalizar as conclusões.

SUMMARY

The effect of environmental factors on the pathogenic behaviour of two physiologic races of *Puccinia anomala* Rost. was studied with the following results:

a) Temperature. A temperature of 28° C. inhibits the germination of uredospores. It was also shown that the rust cannot survive when the host is maintained continuously at 30° C. Attention is drawn to the time of exposure in relation to the temperature and to the relatively small significance of mean temperatures on the comparison of reactions of physiologic races.

b) Light. Darkness does not affect the germination of uredospores and aecidiospores of *Puccinia anomala* nor their entrance into the host tissues. Further development of the infection is, however, greatly modified by darkness.

c) Humidity. Germination of uredospores and infection of barley leaves is possible at relative humidities from 72.5 % to 100 %.

The importance of control of environmental conditions for the work of determination of physiologic races is emphasised.

AGRADECIMENTOS

O estudo que apresentamos foi executado principalmente no Laboratório de Patologia Vegetal «Veríssimo de Almeida» durante os anos de 1935-36. Desejamos deixar aqui expresso o nosso agradecimento ao Prof. M. Sousa da Câmara pelas facilidades de trabalho que nos dispensou durante aquele período, bem como ao Prof. F. T. Brooks da Botany School de Cambridge (Inglaterra) onde o trabalho foi iniciado.

BIBLIOGRAFIA

APPEL, O. und SCHEIBE, A.
1931 Beobachtungen über die Verbreitung der einzelnen Getreiderostarten in Deutschland insbesondere im Jahr 1930. *Mitt. dtsch. LandwGes.* **4,** 2.

BEVER, W. M.
1934 Effect of light on the development of the uredial stage of *Puccinia glumarum. Phytopathology,* **24,** 507-516.

COTTER, R. U. and LEVINE, M. N.
1932 Physiologic specialization in *Puccinia graminis secalis. J. agr. Res.* **45:** 297-315.

FORWARD, D. F.
1932 The influence of altered host metabolism upon modification of the infection type with *Puccinia graminis tritici* p. f. 21. *Phytopathology* **22,** 493-554.

FROMME, F. D.
1913 The culture of cereal rust in the greenhouse. *Bull. Torrey bot. Club* **40,** 501-521.

GASSNER, G.
1927 Die Frage der Rostanfälligkeit als ernährungsphysiologisches Problem. *Z. für angew. Bot.* **9,** 82.

——— und STRAIB, W.
1929 Untersuchungen über die Abhängigkeit des Infektionsverhaltens der Getreidrostpilze vom Kohlensäuregehalt der Luft. *Phytopath. Z.* **1,** 1-30.

GASSNER, G. und STRAIB, W.

1931 a Zur Frage der Konstanz des Infektionstypus von *Puccinia triticina* Erikss. *Phytopath. Z.* **4,** 57-64.

1931 b Untersuchungen zur Frage der biologischen Specialis ierung desWeizengelbrostes. *Der Züchter.* **3,** 229-240.

——— und HASSEBRAUK, K.

1931 Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Míneralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. *Phytopath. Z.* **3,** 535-617.

1934 Über den Einfluss der Mineralsalzernährung auf das Anfälligkeitsverhalten der zur Rassenbestimmung von Getreidrosten dienenden Standardsortimente. *Phytopath. Z.* **7,** 63-72.

——— und GOEZE, G.

1932 Über den Einfluss der Kaliernährung auf die Assimilationsgrösse von Weizenblättern. *Dtsch. bot. Gesel.* **50a,** 412-482.

——— und FRANKE, W.

1934 Über den Einfluss der Temperatur auf Stickstoffgehalt und Rostresistenz junger Getreidepflanzen. *Phytopath. Z.* **7,** 315-316.

1938 Einige Versuche über die Beeinflussung des Stickstoffhaushaltes junger Weizenblätter durch den Kohlensäuregehalt der Luft. *Phytopath Z.* **11,** 98-105.

GORDON, W. L.

1930 Effect of temperature on host relations to physiologic forms of *Puccinia graminis avenae* Erik et Henn. *Sc. Agric.* **11,** 95-103.

1933 A study of the relation of environment to the development of the uredinial and the telial stage of the physiologic forms of *Puccinia graminis avenae* Erik. et Henn. *Sci. Agric.* **14,** 184-287.

HART, H. and FORBES, I. L.

1935 The effect of light on the initiation of rust infection. *Phytopathology,* **25,** 715-725.

——— and ZALESKI, K.

1925 The effect of light intensity and temperature on infection of Hope wheat by *Puccinia graminis tritici. Phytopathology.* **25,** 1041-1064.

HASSEBRAUK, K.

1930 Über die Abhängigkeit der Rostinfektion von der Mineralsalzernährung der Getreidepflanze. *Z. fur angew. Bot.* **12,** 23-35.

1934 Bedeutung der Bodenfeuchtigkeit für das Verhalten von *Puccinia graminis* und *Puccinia triticina* auf verchiedenen Weizensorten. *Phytopath. Z.* **7,** 259-269.

HEY, H.

1932 Beiträge zur Specialisierung des Gerstenzwergrostes, *Puccinia simplex* Erik. et Henn. *Arb. aus der Biolog. Reichs. für Land-und Forst.* **19,** 227-261.

JONHSON, T.

1931 Studies in cereal diseases VI. A study of the effect of environmental factors on the variability of physiologic forms of *Puccinia graminis tritici* Erik. et Henn. *Dom. of Canada Dept. Agr.*, Bul. 140, N. S.

JOHNSTON, C. O. and MAINS, E. B.
1932 Studies on physiologic specialisation in *Puccinia triticina* Erik. *Techn. Bull. U. S. Dept. Agric.* N.º 313.

LEVINE, M. N.
1923 A statistical study of the comparative morphology of biologic forms of *Puccinia graminis. J. agric. Res.* **24,** 539-569.

MAINS, E. B.
1917 The relation of some rusts to physiology of their hosts. *Am. J. Bot.* **4,** 179-220.

——— and JACKSON, H. S.
1926 Physiologic specialisation in the leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erik. *Phytopathology.* **16,** 89-120.

MELANDER, L. W.
1931 The effect of temperature and light on the development of the uredinial stage of *Puccinia graminis* (Abst.). *Phytopathology.* **21,** 109.
1935 Effect of temperature and light on development of the uredinial stage of *Puccinia graminis. J. agric. Res.* **50,** 861-880.

MURPHY, H. C.
1935 Physiologic specialisation in *Puccinia coronata avenae. U. S. Dept. Agric., Techn. Bull.* 433.

NAOUMOV , N. A.
1935 The influence of temperature and humidity of the air on the incubation period of *Puccinia triticina. Plant. Prot.* Leningr. **5,** 33-35. Ref. in: *Rev. appl. Myc.* **15,** 562-563.

NEWTON, M. and JOHNSON, T.
1932 Studies in cereal diseases. VIII Specialisation and hybridization of wheat stem rust *Puccinia graminis tritici,* in Canada. *Canada Dept. Agric. Bull.* 160, N. S. 60.

OLIVEIRA, B.
1939 Studies on *Puccinia anomala* Rost. I Physiologic races on cultivated barleys. *Ann. appl. Biol.* **25** (1), 56-82.

PETURSON, B.
1930 Effect of temperature on host reactions to physiologic forms of *Puccinia coronata avenae. Sci. Agric.* **11,** 104-110.

ROBERTS, F. M.
1936 The determination of physiologic forms of *Puccinia triticina* Erikss. in England and Wales. *Ann. appl. Biol.* **23,** 271-301.

RONSDORF, L.
1934 Einige Versuche über den Nachweis biologischer Rassen des Gerstenzwergrostes. *Arbt. aus der Biol. Reichsanstalt f. Land- und Forstwirtschaft* **21,** 109-114.
1935 Weitere Untersuchungen über den Nachweis biologischer Rassen des Gerstenzwergrostes, *Puccinia simplex* Erikss. und Henn. *Phytopath. Z.* **7,** 236-243.

STAKMAN, E. C., LEVINE, M. N. and LEACH, J. G.
1919 New biologic forms of *Puccinia graminis. J. agr. Res.* **16,** 103-105.

STAKMAN, E. C. and HART, H.

1936 The nature of resistance of cereals to rust. *Reports* III. *Cong. Int. Pat. Comp.* Athenes. 253-266.

STEINER, H.

1933 Über Braunrost- *(Puccinia triticina* und *Puccinia dispersa)* Infektionen an abgeschnittenen Getreideblättern. *Z. fur Pflanzenschutz.* **43,** 428-432.

STOCK, F.

1931 Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachstum der Uredosporen einiger Getreideroste. *Phytopath. Z.* **3,** 231-279.

STROEDE, W.

1933 Ueber den Einfluss von Temperatur und Licht auf die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. et Henn. *Phytopath. Z.* **5,** 613-624.

WARD, H. M.

1902 Experiments on the effect of mineral starvation on the parasitism of the Uredine fungus, *Puccinia dispersa,* on species of *Bromus. Proc. Roy. Soc.,* London. **71,** 138-151.

1905 Recent Research on the Parasitism of Fungi. *Ann. Bot.* **24,** 1-51.

WATERHOUSE, W. L.

1929 Australian Rust Studies. *Proc. Linn. Soc. N. S. W.* **54,** 615-680.

WILHELM, P.

1932 Studien zur Specialisierungsweise des Weizengelbrostes, *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. et Henn., und zur Keimungsphysiologie seiner Uredosporen. *Arbt. aus der Biol. Reichs. für Land- und Forst.* **19,** 133.

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS COM O BACTERIUM SAVASTANOI E. F. SMITH E O BACTERIUM SAVASTANOI VAR. FRAXINI N. A. BROWN.

POR *MARIA DE LOURDES D'OLIVEIRA*
(ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL)

INTRODUÇÃO

A patogenicidade do *Bacterium savastanoi* E. F. Smith, agente da tuberculose da oliveira, embora restricta a espécies da família Oleaceae, tem sido experimentalmente provada para outras plantas, principalmente dos géneros *Olea* e afins (C. O. SMITH, 1922 e 1934).

Em 1932 BROWN descreveu um cancro do freixo *(Fraxinus excelsior)* que provou ser produzido por uma bactéria culturalmente muito semelhante ao agente da tuberculose da oliveira e que, dada a proximidade botânica dos hospedeiros, BROWN classificou como uma variedade do *Bacterium savastanoi* (var. *fraxini* Brown).

O aspecto macroscópico das duas doenças é bastante diverso e tôdas as tentativas de produzir inoculações cruzadas teem resultado infrutíferas, pelo menos no que respeita à reprodução do tipo natural de infecção.

As pequenas diferenças culturais e a restricção parasitária teem sido atribuídas à influência exercida pelo hospedeiro natural sôbre o seu parasita específico; quere dizer: o *habitat* forçado de cada um dos organismos traria como conseqüência a limitação do poder patogénico, ao mesmo tempo que condicionaria certas características fisiológicas que distinguem as duas variedades.

No entanto, as características anátomo-patológicas e o tipo das lesões apresentadas pelos dois hospedeiros, quando naturalmente infectados pelos respectivos parasitas, podem ser considerados como o resultado tanto da actividade do organismo patogénico como do modo peculiar de reacção de cada uma das plantas. Esta

Recebido para publicação em Março de 1939.

primeira questão só poderia ser solucionada se se encontrasse um hospedeiro comum aos dois organismos.

Por outro lado, as diferenças nas reacções fisiológicas dos dois organismos, a serem determinadas pelas condições do *habitat* deveriam desaparecer desde que estes fôssem cultivados sôbre um substracto comum. Ora, essas diferenças não desapareceram pela longa cultura (17 anos) em meio sintético, como o mostrou BROWN (1932).

No presente estudo experimentaram-se várias plantas da família Oleaceae como hospedeiros dos agentes da tuberculose da oliveira e do cancro do freixo. Procurou-se determinar o âmbito de patogenicidade dos dois organismos, reconhecer os tipos de lesão por êles produzidos nos vários hospedeiros e verificar até que ponto se podia relacionar a influência do hospedeiro com o aspecto das lesões.

ISOLAMENTOS

As culturas de *Bacterium savastanoi*, utilizadas nestes ensaios, foram isoladas de tuberculos naturalmente produzidos em diversas variedades de oliveira, colhidas em diferentes localidades do País. Um estudo cultural comparativo de todos os isolamentos mostrou pequenas divergências nas reacções fisiológicas e estas serão tratadas em capítulo especial.

A patogenicidade das diferentes estirpes foi experimentada numa só variedade de oliveira (não determinada), não se tendo notado, debaixo das condições da experiência, quaisquer indícios de especialização fisiológica.

Para as experiências de inoculação cruzada e para todos os outros fins em que se não indique o contrário, a estirpe usada foi a que no Laboratório designamos por «Bical 25» e que foi isolada de oliveira da variedade Bical, proveniente de Beja.

As culturas de *Bacterium savastanoi* var. *fraxini* foram isoladas em Cambridge (Inglaterra) de cancros em freixos *(Fraxinus excelsior)* encontrados em duas localidades perto da cidade.

Não se encontraram diferenças nas reacções laboratoriais de estirpe para estirpe, pelo que uma foi escolhida e todos os ensaios realizados com ela.

Tanto na oliveira como no freixo os organismos foram prontamente isolados das respectivas lesões, tendo-se obtido boas coló-

nias ao fim de 48 horas, pela sementeira, em gelose de batata simples, de uma suspensão de material doente em água.

Pela observação do material fresco, nota-se que as bactérias se encontram em maior abundância e com melhor mobilidade nas margens dos cancros dos freixos (tecidos recentemente invadidos) e nas partes tenras e semi-esponjosas dos tumores da oliveira.

ENSAIOS CULTURAIS

As reacções laboratoriais de rotina foram ensaiadas repetidas vezes e em conjunto, primeiro com todos os isolamentos de oliveira, depois com alguns dêstes e os isolamentos de freixo. Os ensaios paralelos entre as diferentes estirpes do mesmo organismo, realizados sob as mesmas condições, tinham por fim determinar quaisquer diferenças nas reacções culturais e fisiológicas.

Nas suas linhas gerais as características das duas variedades mantiveram-se invariáveis através do período de cultura em meios artificiais e fiéis aos tipos descritos para êstes organismos. As pequenas diferenças entre estirpes da mesma variedade, isoladas de locais diferentes, residiram principalmente na intensidade das reacções como por exemplo na redução de certos açúcares.

Entre as nossas observações e os resultados apontados por BROWN (1932) e também já citados por E. F. SMITH (1920) há, no entanto, uma constante discordância. Ao passo que os autores americanos notavam que, nos tubos velhos de solução de COHN inoculados com a bactéria do freixo, se formava uma coloração esverdeada, nos nossos ensaios êsse facto nunca se verificou com a bactéria do freixo, mas muitas vezes, e nalguns casos mais precocemente ainda do que SMITH indica, o meio tomava uma fluorescência esverdeada, quando inoculado com a bactéria da oliveira. Até que ponto isso possa ser significativo não conseguimos determinar, porquanto nem tôdas as nossas estirpes da oliveira deram a reacção. Verdade é também que se nunca encontramos a pigmentação verde do líquido de COHN no pequeno número de isolamentos de freixo que tivemos ocasião de experimentar, isso se pode atribuir ao número de estirpes em observação ser demasiado limitado para se dar a ocorrência. Talvez, se os isolamentos fôssem mais numerosos em ambos os casos, viessemos a verificar que a produção de

pigmento neste meio, não é apanágio de uma ou outra variedade, mas uma característica de estirpe sem valor distintivo.

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS

As experiências de inoculação foram realizadas em parte em Cambridge (Botany School) e em parte em Lisboa no campo experimental e na estufa do Laboratório de Patologia Vegetal «Veríssimo de Almeida».

Damos a seguir uma lista de tôdas as plantas que foram experimentadas:

Olea europaea var. *sativa* (Hoffgg. et Lk.) DC.
Olea europaea var. *Oleaster* (Hoffgg. et Lk.) DC.
Fraxinus excelsior L.
Fraxinus angustifolia Vahl. (= *F. oxycarpa* Willd.)
Forsythia viridissima Lindl.
Forsythia suspensa (Thunb.) Vahl.
Forsythia intermedia (= *F. suspensa* × *F. viridissima*)
Phillyrea media L.
Syringa vulgaris L.
Ligustrum japonicum Thunb.
Jasminum nudiflorum Lindl.
Nerium Oleander L.
Vinca major L.

As plantas de *Nerium* e de *Vinca* foram incluídas, apesar de pertencerem à próxima família das Apocynaceae por se conhecer uma doença bacteriana do *Nerium* cujo agente se considera uma variedade do *Bacterium savastanoi* (*B. savastanoi* var. *Nerii* C. O. SMITH, 1906, 1916, 1928). Nas nossas tentativas de inoculação, porém, as duas plantas desta família não mostraram o mais leve grau de susceptibilidade, tendo tôdas as feridas de inoculação cicatrizado mais ou menos ao mesmo tempo que as picadas testemunhas.

Cada um dos organismos foi primeiro inoculado no seu hospedeiro natural para verificação da actividade patogénica e seguidamente nas plantas disponíveis da colecção indicada.

Pelo que respeita à inoculação directa os resultados foram sempre concordes e os sintomas obtidos característicos da doença nesse hospedeiro. O *Bacterium savastanoi*, quer isolado de oliveira ou de zambujeiro, não diferiu na sua capacidade de atacar qualquer destas duas plantas; quere dizer que a variedade cultivada e a variedade expontânea da *Olea europaea* reagem da mesma forma ao ataque desta bactéria, ou são naturalmente infectadas pela mesma forma.

O *B. savastanoi* var. *fraxini*, embora isolado de *Fraxinus excelsior*, foi inoculado também em *F. angustifolia (=F. oxycarpa)* e reproduziu a doença nos seus sintomas naturais em ambas as espécies.

Nas inoculações cruzadas o organismo da oliveira, quando inoculado em freixo, não reproduziu o tipo de lesão que é caractetístico desta planta (cancro, uma lesão portanto de tipo destrutivo, necrótico), mas, sempre que a infecção atingiu alguma intensidade, tomou esta o aspecto proliferativo, de tumor, em alguns casos bem desenvolvido como se vê na fig. C, Est. II. Por outro lado, as inoculações feitas em oliveira com o organismo do freixo, nunca deram origem a galhas ou tuberculos, mas apenas a necroses que, se nem sempre se tornaram extensas, deixaram contudo uma ferida aberta que nunca cicatrizou completamente.

Pelo que respeita às inoculações em plantas estranhas a estes dois géneros, os resultados positivos foram mais numerosos e nítidos com o *Bacterium savastanoi*, do que com a sua variedade *fraxini*. Dum modo geral, o organismo do freixo mostrou-se patogènicamente muito fraco fora do seu hospedeiro natural. Pelo contrário, o agente da tuberculose da oliveira induziu a formação de tumores bem desenvolvidos nas seguintes plantas, além da oliveira e do zambujeiro:

Fraxinus angustifolia Vahl.
Forsythia viridissima Lindl.
Forsythiaintermedia.

Em *Phillyrea media*, algumas inoculações por picada feitas no pecíolo ou na nervura principal na fôlha, resultaram numa proliferação de tecidos ao longo das nervuras com um aspecto

INOCULAÇÕES EXPERIMENTAIS COM O BACT. SAVASTANOI
E A SUA VARIEDADE FRAXINI EM PLANTAS RELACIONADAS COM A OLIVEIRA
E O FREIXO

Hospedeiro	*Bact. savastanoi*	*Bact. savastanoi* var. *fraxini*
Olea europaea var. *sativa*	Tumores atingindo grandes dimensões, mantendo-se activos por longo tempo.	Necrose dos tecidos numa pequena mancha em redor do ponto de inoculação.
Olea europaea var. *Oleaster*	Tipo de reacção idêntico ao do hospedeiro anterior.	Tipo de reacção idêntico ao do hospedeiro anterior.
Fraxinus excelsior	Ao princípio aparência de actividade, mas a ferida fecha sem cicatriz.	Desde o início uma ferida húmida que alastra, deixando grandes regiões necrosadas.
Fraxinus angustifolia	Tumores semelhantes aos que se formam na oliveira.	Tipo de reacção idêntico ao do hospedeiro anterior.
Ligustrum japonicum	Um estímulo da divisão celular nos primeiros tempos, seguido de cicatrização quási regular.	Uma escara húmida que não alastra mas persiste por longo tempo.
Forsythia viridissima	Formação de tumores que com freqüência acarretam a morte do ramo.	Tipo de reacção idêntico ao do hospedeiro anterior.
Forsythia intermedia	Pequenos tumores formados na região da inoculação. Todo o desenvolvimento cessa depois de 4 ou 5 meses.	Necrose que alastra durante algum tempo. Às vezes a lesão toma um aspecto circular que acarreta a morte do raminho.
Forsythia suspensa	Poucos sinais de actividade infecciosa. O ponto de inoculação cicatriza sem vestígios.	Uma escara húmida que não alastra mas persiste por algum tempo.
Syringa vulgaris	Formação de pequenas protuberâncias no ponto de inoculação.	Sem efeito apreciável.
Phillyrea media	As inoculações feitas na nervura duma fôlha produzem uma poliferação de tecidos de aspecto rugoso.	Sem efeito apreciável.
Jasminum nudiflorum	Sem efeito apreciável.	Sem efeito apreciável.

rugoso como se vê na Est. II, B. Na *Forsythia viridissima* os tumores que se formam teem um aspecto muito semelhante aos desenvolvidos na oliveira. Contudo, o efeito sôbre o hospedeiro parece ser mais severo, pois ao passo que se vê com freqüência ramos de oliveira com grandes tumores continuar a viver por longo tempo, no caso da *Forsythia* o ramo morre a partir do tumor para a extremidade.

É curioso ainda notar que só nos hospedeiros naturais a doença parece disseminar-se expontâneamente. Tanto as plantas de oliveira com tumores como as de freixo com cancros, quando, depois de um período de relativa secura, são sujeitas a uma rega abundante (principalmente plantas envazadas na estufa), deixam ver uma prolongada exsudação de uma suspensão leitosa que sai das lesões activas e se espalha à superfície dos ramos. Êste exsudado, observado ao microscópio, consiste numa suspensão de bactérias particularmente móveis. Nestas condições a mais pequena ferida constitui porta de entrada para o organismo patogénico e com efeito, se experimentalmente se ferir a epiderme ou mesmo se se destacar uma fôlha, provoca-se uma infecção cujos primeiros sintomas podem ser reconhecidos ao fim de três ou quatro semanas.

COMPARAÇÃO MICROSCÓPICA DAS LESÕES

A anatomia patológica das lesões causadas na oliveira pelo *Bact. savastanoi* foi já descrita por E. F. SMITH duma maneira muito completa. Não acontece o mesmo com o cancro do freixo, do qual se não conhecem as relações entre as células do hóspede e o parasita, salvo por umas notas preliminares publicadas por BROWN (1932).

Não fizemos um estudo intensivo dêste assunto, mas tendo fixado e preparado material das nossas inoculações experimentais, vamos apresentar algumas notas das observações feitas.

Em primeiro lugar digamos que o material de oliveira se presta mais ao estudo histológico do que o dos cancros do freixo. Escolhemos no primeiro caso pequenos tumores produzidos em pecíolos de fôlhas de oliveira por ser mais fácil de trabalhar. Empregámos um fixador rápido (CARNOY) e as lâminas foram na sua maior parte coradas pelo método de STOUGHTON (1930) com azul

de tionina e orange G, o qual deu sempre os melhores resultados, permitindo uma fácil diferenciação dos diferentes tecidos e das bactérias. Estas tomam um tom rôxo intenso, em contraste com as células do hospedeiro que ficam verdes e amarelas. Algumas lâminas foram também còradas com alumen-férrico e hematoxilina sendo neste caso a diferenciação menos clara.

No caso do freixo tiveram que se usar os tecidos lenhosos das hastes, pois as lesões não se formam nem em pecíolos nem em rebentos novos, o que consideràvelmente dificulta a manipulação do material. A técnica de amolecer os tecidos pela desmineralização com ácido fluorídrico, também foi tentada mas não pôde ser seguida porque o ácido destroi as bactérias, que aparecem completamente vasias depois de còradas.

A anatomia patológica das duas doenças foi considerada por BROWN (1932) como sendo completamente diferente, principalmente pela não formação de cavernas contendo as bactérias, no caso do cancro do freixo. Parece-nos, contudo, que a diferença não é muito grande, pois se considerarmos a zona de invasão da doença — aquela em que a bactéria se encontra activa — notamos que aí também se encontram bolsas, embora mais pequenas, com abundantes bactérias e que daí elas irradiam pelos espaços intercelulares fazendo alargar a infecção. A diferença fundamental é que, na tuberculose da oliveira, a infecção não acarreta a morte das células, antes exerce um efeito estimulante sôbre a divisão, observando-se poucos ou nenhuns sinais de degenerescência nas células visinhas das cavernas. Pelo contrário, no freixo o efeito primário é necrótico, encontrando-se largas zonas destruídas e já abandonadas de bactérias no centro da infecção, ao passo que em círculos que se afastam do ponto inicial, a bactéria vai procurando refúgio para se multiplicar. Estas zonas de invasão centrífuga são caracterizadas pela presença de verdadeiras bolsas de paredes fortemente suberisadas e aí o agente da doença se divide. É curioso notar que o efeito deletério sôbre as células se exerce para além da zona efectivamente parasitada. Encontram-se vestígios dêste estado doentio em faixas em redor das cavernas, onde as células apresentam abundantes inclusões e gotas de substâncias estranhas.

As cavernas formadas na oliveira são limitadas por uma parede mais delgada e estão rodeadas por células de aspecto normal em que se não notam depósitos nem inclusões. Parece que neste caso

há um melhor ajustamento entre as actividades do hóspede e do parasita, tanto mais que êste equilíbrio se mantém por um tempo relativamente longo. Os tumores continuam a crescer dum ano para o outro e, a não ser em lesões muito velhas, em que possìvelmente já intervieram agentes secundários, não se encontram necroses ou tecidos destruídos. O que é mais freqüente é intervirem insectos que atacam os tecidos tenros e esponjosos dos tuberculos e mesmo até fungos que actuam como parasitas fracos, ou se instalam como saprofitas.

É curioso ainda notar que a intervenção de fungos como agentes secundários pode, até certo ponto, modificar o aspecto geral do quadro da doença. Num caso por nós observado de cancro de freixo, só as infecções muito novas tinham o aspecto característico. Nas lesões velhas havia uma proliferação de tecidos, embora mantendo o tipo aberto de escaras húmidas, e por estudos culturais conseguiram isolar-se fungos, alguns do género *Fusarium*, e um outro que o Dr. John Ehrlich, de Kew, classificou como *Cylindrocarpon Mali* (Allescher) Wollenweber ou a sua variedade *flavum* Wollenw. Também de velhos tumores em oliveira se isolaram, por vezes, fungos do género *Fusarium*.

DISCUSSÃO

Êste estudo foi realizado com o fim de determinar se as doenças produzidas na oliveira e no freixo pelo *Bacterium savastanoi* e a sua variedade *fraxini* eram transmissíveis a outras plantas e, nesse caso, qual a sintomatologia dominante de cada uma delas nos diferentes hospedeiros.

Algumas pequenas diferenças na fisiologia dos dois organismos, bem como o facto de S. O. SMITH ter conseguido obter tumores em freixo (*Fraxinus velutinus* e *F. floribunda*) com a bactéria da oliveira, levaram à suspeita de que o tipo de lesão fôsse uma característica do agente da doença e não o resultado do modo particular de reacção da planta hospedeiro.

Dos resultados das inoculações experimentais atrás descritos conclui-se que alguns hospedeiros são capazes de reagir diferentemente quando inoculados com um ou outro dos organismos em estudo. Numa das variedades de Freixo por nós usada (*Fraxinus*

angustifolia), por exemplo, ao passo que a inoculação com a bacteria do freixo dava lugar à formação de cancros típicos, a inoculação com o agente da tuberculose da oliveira provocava o devenvolvimento de tumores, absolutamente semelhantes aos que se formam no hospedeiro natural.

Também na *Forsythia viridissima*, que se mostrou susceptível ao *Bact. savastanoi*, apresentando tumores bem desenvolvidos, a inoculação com o var. *fraxini*, embora não produzindo verdadeiros cancros, deu sempre origem à formação de escaras que evolucionam segundo o tipo necrótico.

Mesmo da comparação microscópica das lesões resalta que o efeito sôbre as células é muito diferente nos dois casos. Na oliveira vê-se que, as células que rodeiam as cavernas têm aparência e dimensões normais e que as bactérias se encontram uniformemente distribuídas por todo o tumor, sem que a actividade da divisão celular cesse, mesmo nas regiões infectadas há mais tempo. No freixo as células visinhas da zona onde as bactérias se multiplicam têm um aspecto doente e muitas morrem sem ter chegado ao contacto do agente patogénico. Parece que, da mesma forma que o estímulo imposto pelo agente da tuberculose, se difunde pelas células duma área em redor da infecção, acarretando uma desordenada divisão celular que leva à hiperplastia, também a bactéria do freixo actua a distância, induzindo a desorganização e a morte dos elementos celulares que ficam numa zona relativamente afastada do ponto de infecção.

Em todos os casos em que se manifestou qualquer indício da actividade do parasita, esta foi sempre bem característica do tipo natural de lesão provocada por êsse organismo no seu hospedeiro de origem. Quere dizer, a bactéria do freixo, mesmo quando não produziu verdadeiros cancros, conduziu à formação de lesões do tipo necrótico, ao passo que o organismo da oliveira induziu uma proliferação de tecidos em todos os casos em que conseguiu estabelecer-se numa planta. Parece, pois, que o quadro sintomatológico destas duas doenças é imposto, não pelo hospedeiro que a suporta, mas pelo parasita que a origina. E mais: que êste parasita, mesmo fora do hospedeiro que lhe é natural, leva consigo o poder de imprimir a qualquer planta que infecte o tipo de lesão que lhe é peculiar.

SUMMARY

The present study was undertaken to ascertain whether the differences in symptoms between the olive knot and the ash canker diseases, produced respectively by *Bacterium savastanoi* E. F. Smith and *B. savastanoi* var. *fraxini* N. A. Brown, were due to diverse host reaction or to a specific activity of the pathogens.

As these two organisms do not cross inoculate — at least it was never possible to produce any sort of lesion on the olive with the ash bacterium, it was thought convenient to test some plants as hosts with the aim of comparing their effects.

The results of these inoculations are summarized in a Table, and from there it is seen that the olive organism is far more activ outside its natural host, than the ash organism. Typical galls were produced on spp. of *Forsythia (F. viridissima* and *F. intermedia)* and also on *Fraxinus angustifolia*. Besides a certain number of plants showed undoubtful signs of cell proliferation, as for instance *Phillyrea media*, which develops a rough overgrowth along the veins as seen on Plate II, fig. B. The ash organism, on the other hand, was not able to induce the formation of true cankers on plants other than those belonging to the genus *Fraxinus* although, whenever it was able to establish itself on a plant for a time, the effect of the infection was of the necrotic type.

It is seen, therefore, that the pathogenic tendencies of the two organisms, on the whole, keep true to their original type, and also that both hosts are capable of showing lesions of the type that is not usual with them. Besides, a type of proliferating canker is also common on ash trees. But it is caused by a fungus, *Cylindrocarpon (Nectria)*, which, most probably, finds its way into the lesions first formed by the bacterium.

AGRADECIMENTOS

Desejamos expressar os nosssos agradecimentos ao Dr. W. J. Dowson pela assistência dispensada durante a parte do trabalho realizada em Cambridge.

Também agradecemos à Firma Alfredo Moreira da Silva & Filhos, do Pôrto, a oferta e envio para Inglaterra de algumas plantas de oliveira.

BIBLIOGRAFIA

BROWN, N. A.

1932 Canker of Ash trees produced by a variety of the Olive tubercle organism, *Bacterium savastanoi. J. agr. Res.* **44,** (9), 701-722.

SMITH, C. O.

1906 A bacterial disease of Oleander. *Bacillus oleae* (Arcang.) Trev. *Bot. Gaz* **42,** 301-306.

1916 Notes on Oleander bacteriosis. *Phytopathology* **6,** 308.

1922 Pathogenicity of the olive knot organism on hosts related to the olive. *Phytopathology* **12,** 271-278.

1928 Oleander bacteriosis in California. *Phytopathology* **18,** 503-518.

1934 Olive knot on *Olea chrysophylla. Phytopathology* **24,** 307-308.

SMITH, E. F.

1908 Recent studies of the olive tubercle organism. *U. S. Dept. Agric. Bul* 131, 25-43.

1920 An Introduction to bacterial diseases of plants. W. B. Saunders Co.: Philadelphia.

STOUGTON, R. H.

1930 Thionin and orange G for the differential staining of bacteria and fungi in plant tissues. *Ann. appl. Biol.* **17,** (1).

ESTAMPA I

Fig. A — Ramos de oliveira com tumores produzidos pelo *Bacterium savastanoi.* Material colhido em Portugal.

Fig. B — Outro aspecto de tumores em ramos de oliveira.

Fig. C — Ramos de freixo *(Fraxinus excelsior)* com cancros produzidos pelo *Bacterium savastanoi* var. *fraxini.* Material colhido em Inglaterra.

Fig. D e E — Inoculações experimentais com o *B. savastanoi* var. *fraxini* em *Fraxinus angustifolia.*

Fig. F. e G.— Inoculações experimentais com o *B. savastanoi* em (F) zambujeiro e (G) oliveira.


A
B
C
D
E
F
G

ESTAMPA II

Fig. A — Inoculações experimentais com o *Bacterium savastanoi* var. *fraxini* em oliveira. Pequenas lesões necróticas e húmidas na região da inoculação.

Fig. B — Inoculação por picada no pecíolo de *Phillyrea media* com o *B. savastanoi*. Proliferação rugosa ao longo das nervuras.

Fig. C — Inoculações experimentais com *B. savastanoi* em *Fraxinus angustifolia*. Tumores do tipo dos produzidos pela bactéria na oliveira.

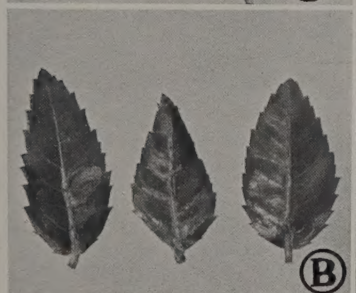
Fig. D e E — Inoculações com o *B. savastanoi* em ramos de *Forsythia viridissima*.

Fig. F — Tumores em *Forsythia viridissima* produzidos pelo *B. savastanoi*. Um estado mais adeantado do que o anterior.

Fig. G — Tumores em *Forsythia intermedia* produzidos pelo *B. savastanoi*. O ramo morre para a extremidade.

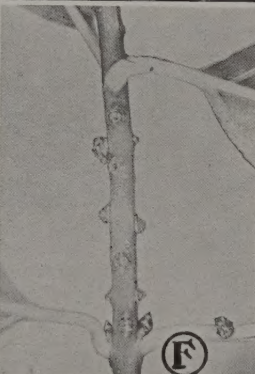

A

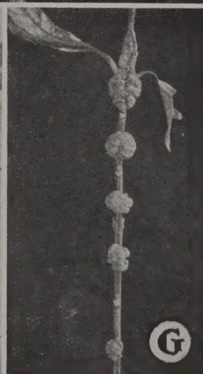

C


B


D


E


F


G

VOLUME I — TOMO I

ÍNDICE